

**Experimentelle Untersuchungen
zur Frage der Nebennierenwirkung
einer isolierten, beim Stressablauf
beteiligten Substanz**

Ohene-Asa Akuffo

1962



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555208_0075

**Experimentelle Untersuchungen
zur Frage der Nebennierenwirkung
einer isolierten, beim Stressablauf
beteiligten Substanz**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Ohene-Asa Akuffo
aus Akropong-Akuapem (Ghana)

München 1962

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. SEITZ

Dekan: Professor Dr. W. SEITZ

Tag der mündlichen Prüfung: 29. ^{5.6.}5. 1962



EINLEITUNG

Stamm und Abstammungsgang	7
Adaptationsleistungen	19
Die Nahrung	34
Die Nahrungsergänzung	34
Das Nahrungsmittel	19

PHYSIOLOGIE

18

IN ERINNERUNG

AN

KÖNIG F. W. KWASI AKUFFO VON AKUAPEM (GHANA)

1863 - 1927

STATISTISCHE STÄRKEUNG DER VERFÜGBAREN KRAFT

25

1. Statistische Angaben über die Kraft	25
2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen Bewertung	27
3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Bewertung	28

Verzeichnis der Abkürzungen

31

Verzeichnis der Abkürzungen

31

Verzeichnis der Abkürzungen

31

Verzeichnis der Abkürzungen

31

Verzeichnis der Abkürzungen

31

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	7
Stress und Stressmechanismus	7
Adaptationskrankheiten	12
Die Nebenniere	14
Die Nebennierenrinde	14
Das Nebennierenmark	16
PROBLEMATIK	18
EXPERIMENTELLER TEIL	20
Gewinnung und Chemismus des biogenen Coenzym (LC 1)	20
Bestimmung der Wirkung von LC 1 auf den Katecholamin- und	
Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren	22
Gewinnung der Eichkurve	22
Bestimmung der hyaluronidasehemmenden Aktivität von LC 1	23
Berechnung der hemmenden Aktivität von LC 1 auf das Hyaluronidase-Spreading	24
Bestimmung der akuten Toxizität von LC 1	24
STATISTISCHE AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE	25
1. Statistisches Modell und Methodik	25
2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung	27
3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung	28
Verzeichnis der Abbildungen	31
Verzeichnis der Tabellen	38
Diskussion	56
Zusammenfassung	58
Literaturverzeichnis	59

EINLEITUNG

Zunächst wird der Stress und Stressmechanismus und im wesentlichen die Rolle eines möglichen FMS (First Mediators of Stress) im Stressmechanismus erörtert. Da die Prüfsubstanz der hypothetischen FMS darstellen soll und ihre Wirkung auf den Katecholamin- und l-Ascorbinsäuregehalt der Nebennierenrinde (NNR) bzw. Nebennierenmark (NNM) Gegenstand der Untersuchungen ist, wird auf die Rolle der Nebenniere (NN) für den Stressmechanismus besonders eingegangen.

Stress und Stressmechanismus

Das Wort "Stress" stammt aus der englischen Sprache und wird in der Physik benutzt, um das Verhältnis zwischen einer Kraft und dem ihr entgegengesetzten Widerstand zu bezeichnen. Das "General Adaptation Syndrom" ("Allgemeines Anpassungs-Syndrom") soll das biologische Äquivalent dieses physikalischen Zustandes darstellen (43).

SELYE bezeichnet den Stress als einen Zustand, der sich in einem spezifischen Syndrom und sich aus allen unspezifisch verursachten Veränderungen zusammensetzt (45). Schon 1936 konnten SELYE und Mitarbeiter zeigen, dass vollkommen verschiedene Reize wie Kälte, Hitze, Infektion, Trauma, Narkose, nervöse Beanspruchung, Röntgenbestrahlung, Hunger, Operationen, Muskelanstrengungen usw. den Körper unter Stress setzen und eine einzige stereotype Reaktionen des Körpers hervorrufen, dessen Erscheinungsform als:

Allgemeines Anpassungs-Syndrom (AAS)

General Adaptation Syndrom (GAS)

genannt wird (43, 45, 46, 48).

Ähnliche Beobachtungen wurden auch von CURLING (1842) berichtet. Er beschreibt akute Duodenalulzerationen nach extensiven Verbrennungen (2, 4). STEWART berichtet, dass sich des öfteren akute peptische Ulzera in Folge von Infektion und malignanten Krankheiten sowie Traumen entwickeln (52, 1).

Nach SELYE läuft das GAS, welches die Reaktion des Körpers gegen den Stress darstellt, in drei spezifischen Phasen ab:

1. Alarmreaktion (AR) mit seiner Trias

- a) Hypertrophie der Nebennierenrinde, wobei die Rinde anfänglich ihre gesamten mikroskopisch kleinen Lipoidtröpfchen, welche die Hormone enthalten, abstößt.
- b) Thymolymphatische Involution oder Schwund im thymolymphatischen System (Eosinopenie, Lymphozytopenie, Polynukleose).
- c) Blutende Erosionen im Magen-Darm-Trakt, also intestinale Ulzera.

Diese Alarmreaktion leitet das GAS ein, und verläuft biphasisch mit einem einleitenden Schock (Temperaturabfall, Blutdruckabfall, Bluteindickung und ver-

mehrte Durchlässigkeit der Kapillaren) und dem nachfolgenden Gegenschock (aktive Verteidigung) (17). In der akuten Phase der AR fällt die allgemeine Widerstandskraft gegen den besonderen Stressor, durch den das GAS ausgelöst wurde, unter die Norm, um dann, wenn der Reiz andauert, in das Stadium des Widerstandes bzw. das Stadium der Resistenz (SR) überzugehen, in dem die Adaptation ihr Optimum erreicht hat und die Störungen der AR überkompensiert sind. Anreicherung der hypertrophierten Nebennierenrinden mit 1-Ascorbinsäure und Lipoiden stehen im Vordergrund.

Schliesslich sinkt der Widerstand in das Stadium der Erschöpfung (SE), wobei die erworbene Adaptation verloren geht, was sich dem AR gleicht, bezüglich den Stoffwechsel- und den morphologischen Veränderungen (43, 45, 46, 17).

Die Suche nach dem Stressmechanismus und seiner Reaktionsbahn sowie das Zustandekommen des GAS sind die wesentlichen Züge der heutigen Stressforschung.

SELYE konnte zeigen, dass bei adrenaletomierten Ratten die AR ausbleibt, dagegen Zufuhr ungereinigten NNR-Extraktes (auch in Abwesenheit der NN) sie wieder erzeugten, woraus zu folgern ist, dass diese AR ein indirektes Ergebnis der Stressreaktion ist, das durch NNR-Hormone ausgelöst wird (48, 43). Ferner fand SELYE, dass blutende Erosionen des Magen-Darm-Traktes, sowie andere Folgen von Schock oder Trauma bei adrenaletomierten Tieren viel stärker ausgeprägt sind als bei normalen. Man konnte sie durch Zufuhr von NNR-Extrakten abschwächen oder sogar verhindern, was bedeutet, dass diese Läsionen nicht durch die NN hervorgerufen werden (48, 43). Ferner konnte SELYE zeigen, dass Hypophysektomie die NNR-Funktion während der AR verhindern konnte; so schliesst er daraus, dass die NNR während des Stress durch adrenocorticotropes Hormon (ACTH) stimuliert wird (50, 43). Siehe Abb.1 (modifiziert und ergänzt nach SELYE (47), SULMAN (53) und WRIGHT (58)).

So wäre den NNR-Hormonen (nach INGLE) "wegbereitende Aktion" (permissive action) zuzuschreiben, d.h. also, dass "die funktionellen Ereignisse, von denen man im allgemeinen annimmt, dass sie für die NNR-Hormonüberproduktion beim Stress charakteristisch sind, nur durch ausserhalb der NNR agierende Stress-Substanzen ausgelöst werden". Dieses ist vielmehr der Fall bei der spezifischen als auch bei der unspezifischen Stressreaktion.

Es können z. B. adrenaletomierte Ratten nicht auf injiziertes somatotropes Hormon (STH) mit Wachstum oder auf follikelstimulierende Hormone (FSH) mit Kopulation reagieren, wenn nicht eine minimale Erhaltungsdosis von NNR-Hormonen gleichzeitig gegeben wird. Es ist bekannt, dass sogar hohe Dosen von NNR-Hormonen diese Reaktion nicht auslösen, ohne das spezifische Stimulans, wie STH, FSH oder luteotropes Hormon (LH) (51).

Die Adrenaletomie, verhindert auch die AR, ebenso eine antiphlogistische Corticoid (AC)-Überproduktion. Aber durch kleinste Erhaltungsdosen von AC, kombiniert mit Stress, wird die AR wieder hergestellt (51, 43).

Auch stressauslösende Substanzen wie Formaldehyd lösen bei normalen Tieren, aber nicht bei hypophysektomierten Tieren eine starke Hypertrophie der NNR

aus, bei hypophysektomierten Tieren auch dann nicht, wenn die NNR durch Behandlung mit ACTH vor dem Zustand der Atrophie bewahrt wurde (50). SELYE schliesst daraus, dass der Effekt eines solchen Tropins auf die NNR ein indirekter ist, der dann erfolgt, wenn durch die auslösenden Faktoren die Hypophyse stimuliert wird (50, 43).

Die Frage ist nun: Wie wird während des Stress die Hypophyse stimuliert, ACTH zu produzieren? SELYE vermutet einen Überträgerstoff, der die Erregung von dem direkt betroffenen Körpergebiet (Target Area) auf den gesamten Organismus überträgt "First Mediators of Stress" (FMS). (Siehe Abb. 1).

Nach SELYE sollen sie jedenfalls "ausserhalb der Hypophysen-Nebennieren-Achse entstehen, da die fraglichen Botenstoffe ja den Impuls z.B. für die Anregung der ACTH-Sekretion, übermitteln" (43, 27), d. h. also, dass eine indirekte Reaktionsbahn den primären Erregungsstoff (FMS) von dem betroffenen Erfolgsorgan direkt zum Hypophysenvorderlappen befördert, welcher die ACTH-Produktion auslöst. ACTH stimuliert die NNR und es erfolgt eine Ausschüttung von Corticoiden, von welchen die prothymischen Corticoide (PC) "die proliferative Abwehrkraft und Reaktionskräfte des Bindegewebes stimulieren, was die Entzündungsreaktionsbereitschaft vergrössert". STH löst den gleichen Effekt aus wie die PC, und so unterstützt es die PC in dieser Funktion. AC hemmen diese Reaktion (43). Aber der Mechanismus ist sicherlich nicht auf diesen Vorgang beschränkt. Es kommen nach experimentellen Beobachtungen andere Mechanismen in Frage:

1. Adrenalin als Mediator (also Überträgerstoff)
2. Humorale Faktoren (Sayers Utilisationstheorie)
3. Nervöser Mechanismus
4. Histamin und histaminähnliche toxische Gewebsmetaboliten als Reizstoffe.

SELYE sagt zur Identifizierung des FMS und zum Stressmechanismus, dass "es möglich sei, dass dieser primäre Erregungsstoff (FMS), für die hormonale Abwehr nicht immer derselbe zu sein braucht. In manchen Fällen mag es Adrenalin sein (Abb. 1), in anderen Fällen histaminähnliche toxische Gewebsmetaboliten, ein nervöser Reiz (Acetylcholin) oder sogar ein plötzliches Versagen irgendeines lebenswichtigen Körperstoffes, wie z.B. Glukose oder eines Ferments" (35, 43).

1. Adrenalin als Mediator

ACTH-Produktion kann eingeleitet werden durch einen Reiz des Sympathikus, der durch Adrenalin vermittelt wird und die Hypophyse stimuliert; d. h. alle Zustände wie z.B. Kälte, Asphyxie und cerebrale Anämie, Hypoglykämie, körperliche Überanstrengung, arterielle Blutdruckerniedrigung (plötzliche arterielle Blutdruckerniedrigung bei ruhendem Versuchstier löst reflektorisch eine Herabsetzung der Adrenalinausschüttung aus), manche emotionellen Zustände wie Angst, bei denen der Sympathikus überwiegt und alle anderen Zustände, die eine genügende Adrenalinausschüttung verursachen, werden eine Stimulierung der Hypophyse zur

ACTH-Produktion und damit eine NNR-Corticoid-Ausschüttung zur Folge haben (58).

Intravenöse Injektion von Adrenalin führt zu ACTH-Ausschüttung und positivem Thorn-Test. Dieser Effekt der intravenösen Injektion von Adrenalin wird aber weder bei adrenaletomierten noch bei hypophysektomierten Tieren beobachtet (14), was deutlich zeigt, dass die Wirkung über die Hypophysen-NNR-Achse abläuft (58).

THORN (54), KARK und MUEHRCKE (16) u. a. stellten jedoch fest, dass Adrenalin auch bei Adrenaletomie und Hypophysektomie eine Eosinopenie hervorruft. Trotzdem ist man im allgemeinen der Ansicht, dass NNR-Hormone zur Erzeugung von der Eosinopenie notwendig sind, da nach ROCHE und Mitarb. (39) das Adrenalin bei unbehandeltem Morbus Addison keine Eosinopenie hervorruft.

Adrenalin-Injektionen bei hypophysektomierten Ratten führen zu erhöhtem Blutspiegel an Steroiden. OKINAKA und Mitarb. (36) schliessen hieraus, dass Adrenalin die NNR direkt stimulieren kann. ACTH-Eosinopenie geht mit Zunahme der NNR-Steroide im Blut einher, dagegen die Adrenalin-Eosinopenie nicht. So glauben die Autoren, dass es sich um verschiedene Wirkungsmechanismen handelt (13).

Adrenalin und Noradrenalin bewirken eine Ascorbinsäure-Depletion im NNM.

Es besteht eine Wechselwirkung zwischen Adrenalin und Histamin, denn Adrenalin-Injektion bewirkt eine Histaminausschüttung. Dies wird von manchen Autoren nicht bestätigt. Trotzdem überwiegt die Meinung, dass diese zwei Substanzen sich gegenseitig beeinflussen, z. B. kann Adrenalin die durch Histamin ausgelöste Gefässerweiterung beseitigen (11).

2. Humorale Faktoren (Sayers)

Stress und gleichzeitige Zugabe genau dosierten Rindenextraktes führen weder zu histologischen noch zu chemischen Änderungen in der Rinde.

Es heisst also, die gleichzeitige Zugabe von Rindenextrakt hat den Blutspiegel an Corticoid, normalerweise durch Stress-Stimulation unterhalten, aufrechterhalten; daher wird kein ACTH produziert und deshalb fehlt die Rindenreaktion, d. h. es wird eine ähnliche Achse wie die "Hypophysen-Thyroid-Achse" zur Erhaltung des Blutspiegels von Thyroxin vermutet (42).

Das würde aber heissen, dass FMS bei einem gewissen Blutspiegel von Corticoid die Hypophyse nicht stimuliert oder dass seine Produktion unterdrückt oder gar völlig verhindert wird. Oder es würde heissen, dass FMS die Hypophyse stimulieren, die ACTH-Produktion aber würde in Schach gehalten durch die von aussen zugeführten Corticoide.

Nach SAYERS beruht die humorale Regulation darauf, dass Stress zum vermehrten Verbrauch der zirkulierenden Rindenhormone und damit zu einem Absinken deren Plasmakonzentration, was sekundär oder kompensatorisch die ACTH-Produktion stimuliert, um dann eine stärkere Corticoidausschüttung zu verursachen.

Denn Injektion von Rindenextrakt führt am intakten Tier zur NN-Atrophie. Die Erhöhung des Blutspiegels an Corticoiden hat die ACTH-Produktion gehemmt. Umgekehrt führt eine einseitige Adrenalectomie zur vermehrten ACTH-Produktion, was die Hypertrophie der verbliebenen Nebenniere zur Folge hat (58).

Diese humorale Theorie widerspricht der Tatsache, dass die Rinde auch bei chronischem Stress hypertrophiert und mehr Corticoid ausscheidet; auch bei Belastung steigt der Corticoid-Blutspiegel. Ferner sind die zeitlichen Verhältnisse nicht vereinbar mit der ausschliesslich humoralen Steuerung der ACTH-Produktion, denn vom Moment der Belastung bis zur Abnahme der Ascorbinsäure in der Nebenniere brauchen nur wenige Sekunden zu vergehen (GRAY und MUNSON zit. (41)). Noch dazu hat dieser vermehrte Verbrauch von Rindenhormonen unter Stress (Utilisationstheorie) experimentell nie nachgewiesen werden können (MUNSON zit. (17)). Das Schicksal der Rindenhormone im Gewebe ist ebenfalls nicht geklärt.

Die Konzentration des ACTH im Blut muss weniger als 0,5 mE je 100 ccm Blut betragen, da im Plasma eines unbelasteten Menschen kein ACTH nachweisbar ist. Exogen zugeführtes ACTH verschwindet in 5 1/2 Minuten. Nach PINCUS soll im Plasma ein ACTH-inaktivierendes System aus thermolabilem Protein und einem in Corticotropin enthaltenen Cofaktor vorhanden sein. ACTH wird im Gewebe fixiert, besonders in Nieren und Nebennieren. Der Abbau erfolgt wahrscheinlich in Leber und Niere. Im Urin werden Spuren von exogen zugeführtem ACTH gefunden (17).

3. Nervöser Mechanismus

Afferente Nerven stimulieren manche Teile des ZNS und Hypothalamus, welche die Hypophyse stimulieren. Es besteht keine direkte nervöse Verbindung zwischen Hypothalamus und Hypophyse aber wohl eine "neurohumorale" chemische Verbindung: Hypothalamus-Stoff), ein corticotropine releasing Faktor (CRF) (35, 58, 53). Ob Serotonin diese Verbindung übernimmt, ist nicht bewiesen (35). (Siehe Abb.1).

4. Histamin und histaminähnliche toxische Gewebsmetaboliten

Durch Histamin wird ein Abfall der Ascorbinsäure in der Nebenniere verursacht, welche durch Antihistaminica (Phynergan u. a.) verhindert werden kann (10). LONG (18) stimmt diesem Ergebnis zu. Diese Depletionswirkung wird jedoch durch Hypophysektomie aufgehoben (55). Nach SELYE (44) können auch histaminähnliche toxische Gewebsmetaboliten eine Freisetzung von ACTH bewirken. Diese Versuche werden als Beweis dafür angesehen, dass Histamin auf dem Wege über eine Stimulierung des Hypophysenvorderlappens wirksam wird. Da dieser Effekt des Histamins durch Adrenolytika aufgehoben werden konnte, dachte man an eine direkte Einwirkung des Histamins auf die Nebenniere im Sinne einer Ausschüttung von Adrenalin. Da diese Blockierungsversuche beschränkt wirksam sind, ist man der Ansicht, dass weder Adrenalin, noch Noradrenalin, noch Histamin oder Acetylcholin alleinige Faktoren in dem hypothalamisch-hypophysären Bindeglied sind (18).

Dass es sich beim Histamin um ein Neurohormon handelt, und dass es auch histaminergische Nervenfasern gibt, wird vermutet (59).

Als primären Erregungsstoff (FMS) hat SELYE Nebenprodukte der Zellaktivität vermutet, und legt ihre Entstehung in die Gewebe, die den Stressoren direkt ausgesetzt sind (27). MACH stimmt dieser Annahme zu und meint, dieser Mechanismus dürfte zumindest nur für eine bestimmte Gruppe vom FMS zutreffen. Nach MACH sei die Unterteilung der FMS in "Aktivitäts-FMS" (Ermüdungsstoffe) und "Schädigungs-FMS" biochemisch gerechtfertigt (27, 46).

Entsprechend den Vermutungen von SELYE und MACH (21, 22) sollen beim endogenen Abbau von Gewebsextrakten, Gewebsteilen, Organellen usw. im Gewebe des Patienten im Zuge einer dreistufigen Biosynthese:

1. Enzymatisch bedingter Gewebsabbau (körpereigenes oder fremdes Gewebe),
2. Biokatalytischer Umbau zu polykondensationsfähigen Verbindungen; vorzugsweise enzymatisch bedingt,
3. Aufbau nach dem Prinzip der Polykondensation, Heteropolykondensate, also die "FMS" entstehen.

MACH vermutet an Hand eigener Ergebnisse (28), dass der primäre Wirkungsmechanismus der FMS auf einer Zwischenkatalysator-Wirkung bei enzymatisch gesteuerten Vorgängen beruhen könnte. Die "Alarmbotschaft" bestünde demnach in einer biokatalytischen Anfachung eines spezifischen Stoffwechsel-Mechanismus des Erfolgorgans. MACH vermutet ferner einen normalen Blutspiegel des FMS (besonders des Aktivitäts-FMS), wie er z. B. bei Muskelleistungen erzeugt wird. Das Stress-Signal würde dann in einer Steigerung des Dosiszulaufs pro Zeiteinheit über einen gewissen Schwellenwert am Erfolgsorgan bestehen. Dies käme dem humoralen Mechanismus von SAYERS nahe (42). Diese Vermutung müsste aber die Widersprüche der humoralen Theorie experimentell beseitigen können.

Adaptationskrankheiten

Die Lehre vom Stress (nach SELYE) will auch das "Kranksein" zu erklären versuchen, "das durch Stress oft auf dem Umwege über eine pathogene Adaptationshormon-Aktivität erzeugt wird". Schädigungen anderer Organ-Systeme wie Nervensystem, Leber und Niere sind auch zu erwähnen (46).

GALEN hat schon in seiner Therapie zwischen einer "indicatio causalis" und einer "indicatio temperamentalis" unterschieden, wo es bei der letzteren nicht gilt, die Ursache der Krankheit zu eliminieren, sondern sie durch Korrektur der Dyskrasie zu heilen (17).

Schon HIPPOKRATES nannte das stresserzeugende Agens (Pónos) (45). Andere Forscher haben sich vor SELYE mit dem Problem der Anpassung und Anpassungsstörungen beschäftigt.

BENNARD lehrte, dass die Beständigkeit des Milieu interieur für die Erhaltung der Gesundheit wichtig sei.

Von CANNON stammt die Abwehr in Notfallsituationen (Emergency Reaction), wo das Nebennierenmark und die sympathischen Systeme zusammenwirken.

HOFF gründet die Anpassung auf das vegetative Nervensystem und die "vegetative Gesamtschaltung".

W. R. HESS verfolgt den gleichen Gedankengang mit den ergotropen und trophotropen Perioden im vegetativen System (17).

SELYE aber legt das Gewicht der menschlichen Abwehr auf die Funktion des Hypophysen-NNR-Systems. "Der Pathogenität mancher allgemeiner oder lokaler stressauslösender Faktoren ist im wesentlichen abhängig von der Funktion dieses Systems" (SELYE).

Die Widerstandslosigkeit des nebennierenlosen Menschen, sowie die plötzlichen Todesfälle ohne schwerwiegende äussere Ursachen aus Mangel an Widerstandskraft bei Patienten mit Status thymolympathicus waren schon bekannt (17).

Die Hypophysen-NNR-Achse kann die Abwehrreaktion des Körpers gegen Stressoren verstärken oder vermindern. Eine Dysfunktion dieses Systems kann daher den Adaptationsmechanismus des Körpers stören und gewisse Krankheiten (Adaptationskrankheiten) auslösen (43).

Beispielsweise ruft zeitweilige Überdosierung von Desoxycorticosteron schliesslich eine selbständige Hypertension hervor, die zum Tode führen kann, lange nachdem die Hormonbehandlung abgebrochen war (metacorticoide Läsionen) (43).

Mit Mineralocorticoiden (MC) z. B. Desoxycorticosteron (Ketoxon) konnten SELYE und PENTZ (43) experimentell verschiedene Zustände der sogenannten hypertensiven und entzündlichen rheumatischen Krankheiten auslösen: z. B. Nephrosklerose, Hypertension, Periarthritis nodosa.

Dieses war auch der Fall durch ursprünglich stressauslösende Faktoren wie Kälte bei Tieren, d. h. die Autoren fanden eine Vergrösserung der NNR und Organschädigungen wie bei der Behandlung mit MC.

Der entgegengesetzte Effekt der MC-Behandlung konnte durch Behandlung mit Glucocorticoiden (GC) wie Cortisol oder Cortison erzielt werden, war zur Thymolympathischen Involution der AR führte, so dass gesagt werden kann: die GC und die MC heben sich in ihrer Wirkung in gewisser Beziehung gegenseitig auf.

Es ist bekannt, dass die GC "antiinflammatorische Corticoide" (AC) sind, d. h. also "entzündungshemmend oder antiphlogistisch" wirken dagegen seien die MC (Aldosteron, Desoxycorticosteron) proinflammatorische Corticoide (PC), d. h. entzündungsfördernd oder proinflammatorisch wirken. Diese beeinflussen den Mineral- und Wasserhaushalt, halten NaCl zurück und fördern die K-Ausscheidung (43).

Ein örtlicher Stressor löst ein Lokal-Adaptationssyndrom (LAS) aus, dessen Erscheinungsformen Entzündung, Hypertrophie, Hyperplasie oder gegebenenfalls sogar Neoplasie andererseits Degeneration, Atrophie oder Nekrose sich auf die unmittelbare Nachbarschaft beschränken. Dieser Vorgang kann auch unspezifisch den ganzen Körper beeinflussen (43).

Alter, Heredität, vorangegangener Stress, Ernährungsstand usw. erklären auch die Krankheitsbereitschaft, denn die Psyche, Soma und Neurovegetativum

bilden einen geschlossenen Funktionskreis und Störung eines Teils davon löst eine Gleichgewichtsschwankung im ganzen aus (REISS (35, 48)).

SELYE sagt "die fundamentale Reaktionsbahn gegenüber einem lokalen Stresserreger ist das LAS mit Entzündung, gegenüber einem allgemeinen Stressauslöser aber das GAS. Die verschiedenartigen Varianten dieser beiden grundsätzlichen Reaktionsbahnen ergeben das klassische Bild der meisten Erkrankungen" (43).

Auch "eine allgemeine Gewebsinsuffizienz im Hinblick auf ihre Fähigkeit, endogene FMS zu synthetisieren, würde eine neue Gruppe in der Reihe der Adaptationskrankheiten erklären" (27).

So wäre die Isolierung und chemische Identifizierung dieses möglichen FMS von größter Bedeutung, da man damit eine neue Wirkstoffgruppe für die Therapie erhalten würde, welche insuffizient chronisch geschädigte Organe, vor allem endogene Drüsen zu stimulieren, statt zu substituieren erlaubt (19).

Die Nebenniere

(Corpora suprarenalia, Glandulae suprarenales)

Die Nebennieren wiegen zusammen 12 - 14 g und bestehen aus zwei verschiedenen Gewebssystemen, der festeren fettig lipoidreichen gelblich-braunen Rinde (mesodermaler Herkunft) und dem weicheren braunroten Mark (ektodermaler Herkunft), geht aus der Sympathikusanlage hervor und enthält daher marklose Nervenfasern und Ganglien, die mit dem Ganglien coeliacum in Verbindung stehen (38, 53).

Die Nebennierenrinde

Die Nebennierenrinde ist in 5 Zonen histologisch und histochemisch differenzierbar und produziert an die 30 Hormone. Jede Hormongruppe wird durch eine antagonistische Hormongruppe gepuffert, z.B. ruft Desoxycorticosteron rheumatische Erscheinungen hervor, Cortison hebt dies auf (35, 43, 53).

Von der Rinde nach innen:

Zona glomerulosa: Produziert Hormone für die Regulation des Mineralstoffwechsels und ihre Antagonisten, überwiegend Aldosteron, 11-Desoxycorticosteron (DOC) und 11-Desoxycortison.

Zona fasciculata: Hormone für die Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels und ihre Antagonisten, vorwiegend 11-Oxycorticosteroide vom Typ des Cortisons, Cortisols und Corticosterons. Diese Zone enthält viel Lipoidkörnchen-Cholesterinester.

Zona X: Rudimentär bei Menschen, bei Nagetieren gut ausgebildet. Hormone für Eiweißstoffwechsel, überwiegend männliche Geschlechtshormone vom Typus des Adrenosteron.

Zona reticularis: Hormone, möglicherweise für den Fettstoffwechsel.

Übergang zum Mark: Bestehend aus nicht chromaffinem Gewebe, möglicherweise Produktion von oestrogenen und progestogenen Hormonen (43, 53).

Der physiologisch aktive Rindenextrakt wird normalerweise in zwei Gruppen geteilt:

1. Kristallinische Komponente
2. Amorphe Komponente.

Von der kristallinischen Komponente sind ungefähr 50 Substanzen isoliert oder synthetisiert worden. Sie werden nach ihren physiologischen Reaktionen an adrenalectomierten Ratten; eingeteilt in:

Oxycorticoide (Glucocorticoide) haben ein =O oder -OH an C¹¹ und greifen in den Kohlenhydratstoffwechsel ein.

Mineralocorticoide haben kein =O oder -OH an C¹¹.

Adrenale Androgene oder neutrale 17-Ketosteroide mit =O an C¹⁷ (siehe Abb. 6).

Die chemisch identifizierten Steroide repräsentieren aber nur 10% der effektiven Wirkung der rohen Extrakte.

Die amorphe Komponente übt dagegen 90% der Wirkung der rohen Extrakte aus, besonders in ihrem Effekt auf die Mineral-Regulation bei adrenalectomierten Ratten (58).

Die Rinde ist reich an Lipoiden (vorwiegend an Cholesterol und Cholesterolester, Vorstufen der Corticoides), ähnlich wie im Grosshirn, ausserdem reich an 1-Ascorbinsäure (Vitamin C). Es ist interessant zu bemerken, dass alle grosshirnlosen Neugeborenen keine Nebennierenrinde besitzen, es wäre also eine funktionelle Beziehung anzunehmen (35, 58).

Die Grösse der Rinde, ihr histologisches Aussehen und ihre chemische Zusammensetzung hängt von verschiedenen Beanspruchungen also Stress ab, dem der Organismus ausgesetzt ist. Das Sudan III gefärbte Bild der Nebenniere eines ungestressten Tieres zeigt eine sehr dunkel gefärbte Zona glomerulosa, nächst dieser einen schmalen ungefärbten Streifen, eine dunkel gefärbte Zona fasciculata und eine ungefärbte Zona reticularis und eine Rinde, die sehr reich an Vitamin C ist. Beim Stress verschwinden diese sudanophilen Granula und das Vitamin C, so dass man glaubte, dass Vitamin C die Synthese der Corticoide katalysiert (Konzentration von Vitamin C im menschlichen Blut 8 - 12 mg%). Der positive Effekt des Vitamin C bezüglich Resistenzerhöhung gegen Krankheit usw. sei hier nur erwähnt. Beim lang anwirkenden Stress hypertrophiert die Rinde und ist gleichmässig mit Granula gefüllt (58).

Die 17-Ketosteroid(17-KS)-Ausscheidung im Urin entstammt den weiblichen, männlichen und Nebennieren-Hormonen, ihre Tests sind daher unspezifisch. Jedoch wird bei der Testung der östrogene Teil durch Natriumlauge entfernt, so dass der Test männliche und Nebennieren-Hormone (wesentlich androgen) erfasst. Dies gibt ein relativ gutes Bild von der hormonalen Tätigkeit der Nebenniere und ein Mass der Stressreaktion, daher zeigt sich eine bedeutende Erhöhung der 17-KS nach jeder Art von Stress (53).

Die 17-KS liegen morgens am höchsten und steigen dann ständig ab bis in die Nacht, aber jeder Stress am Tag, geistiger wie auch körperlicher, bringt neue Spitzenwerte in die Kurve hinein. Ein Schizophrener dagegen, der keine seelischen Konflikte kennt, hat ein gleiches Mass an Ausscheidung. Die präfrontale Leukotomie setzt auch die 17-KS-Ausscheidung erheblich herab, weil die Assoziationsbahnen unterbrochen worden sind und die inneren Konflikte und andere Stress diese Patienten nicht so belasten wie den Normalen (37).

Ausscheidungswerte der 17-KS:

- 1 mg 17-KS/Tag bei Säuglingen beiden Geschlechts, was um ungefähr 1 mg/Tag pro Jahr bis zur Pubertät steigt.
- 12 mg 17-KS/Tag bei Frauen und Kastraten oder eunuchoiden Patienten.
- 18 mg 17-KS/Tag beim Mann nach der Pubertät, weil ungefähr 6 mg/Tag männliche Geschlechtshormone in den Testes gebildet werden (53).

Es besteht auch eine Beziehung zwischen der Nebenniere und den Keimdrüsen. Die Entfernung der Nebennierenrinde wirkt verkleinernd auf die Keimdrüsen. Überproduktion der Nebennierenrinde verstärkt die sekundären Geschlechtsmerkmale bei Jugendlichen und führt zu Pubertas praecox oder adrenogenitalem Syndrom (15). Auf die Beziehung zur Hypophyse bezüglich des Stress wird später näher eingegangen.

Das Nebennierenmark

Das Mark ist nicht so differenziert wie die Rinde. Seine runden Zellen münden direkt in kleine erweiterte Haargefäße (Sinus) also direkt ins Blut. Es produziert Adrenalin, Noradrenalin (Arterenol, Nor-Epinephrin oder Sympathin-N) und Isopropyl-Arterenol (N-isopropyl-nor-Adrenalin). Die Adrenalinabgabe ins Blut beträgt ungefähr 0,1-0,3-0,5 γ Adrenalin/min/kg Körpergewicht, im Notfall bis 1,0 γ /min/kg, und kreist im Blut in einer Konzentration von 1 : 1 Billion, so dass anzunehmen ist, dass es in dieser Konzentration wirksam ist (9, 15).

Alle drei Markhormone haben eine regulative Bedeutung für den Blutdruck. Nor-Adrenalin setzt den Blutdruck herauf. Iso-propyl-Arterenol wirkt gefässerweiternd.

Adrenalin unterscheidet sich vom Nor-Adrenalin dadurch, dass es nur eine Kontraktion der Gefäße der Haut, der Nieren und des Darmes bewirkt, dagegen erweitern sich die meisten Arterien unter seinem Einfluss z.B. Coronar- und Gehirnarterien, auch Lungenarterien. Es wirkt also rein sympathikomimetisch im Sinne des "Fight-, Fright- und Flight-Syndrom", das an sich eine Stress-Reaktion darstellt (15).

Daraus ergibt sich, dass Adrenalin bei Hypertension zu Blutdruckabfall führt oder als Herzstimulans oder bei inneren Blutungen ungewisser Genese zur Behandlung des Schocks Anwendung findet, wogegen das Nor-Adrenalin bei der Hypotonie Anwendung findet. Nor-Adrenalin ist das eigentliche Neurohormon des Sympathikus (9).

Bei dem Phaeochromozytom ist 90% Noradrenalin und 10% Adrenalin vorhanden (HOLTON (35, 15)), bei Normalen dagegen 80% Adrenalin, 20% Noradrenalin (9).

Adrenalin stellt auch das wichtigste Abwehrhormon des angegriffenen Individuums dar. Die Katze in Ruhe produziert sehr wenig Adrenalin, aber sobald sie angegriffen wird (etwa von einem Hund) produziert sie eine grosse Menge Adrenalin, was zur Zuckerausscheidung im Urin und zu erhöhtem Blutdruck führt, also ihre Kampfbereitschaft erhöht (15, 53, 58). Ferner sei erwähnt, dass Adrenalin, Nor-Adrenalin und Serotonin (5-Oxytryptamin (5-OT), Enteramin, Vasotonin, Thrombozytin oder auch Spätgift genannt, in Blutplättchen, Magen-Darm-Schleimhaut und Nervensystem vorkommend, und etwa 10 mal mehr gefässverengend wirksam als Adrenalin) den Kohlenhydratstoffwechsel des Gehirns zum Teil regulieren. Ihre chemischen Antagonisten (Antimetaboliten) können daher ihre regulative Tätigkeit stören, was zur Degeneration der Gehirnsfunktion, also zu Halluzinationen, führt. Der gleiche Effekt der totalen Hemmung ihrer Funktion ist die Hemmung des Ferments, die diese drei wichtigen Hormone an ihre Akzeptoren binden und zwar durch die Monoaminoxidasehemmer (MAO-Blockers) (53).

Dass das Mark eine wichtige Rolle beim Stress spielt, ist aus der Tatsache zu ersehen, dass bei körperlichem Stress mehr Nor-Adrenalin, bei geistigem Stress mehr Adrenalin, bei Angst-Stress Nor-Adrenalin, auch Adrenalin, Aldosteron und antidiuretische Hormone vermehrt produziert und ausgeschieden werden. Beim Kampf-Stress waren die 17-Hydroxycorticoide erhöht (7, 15).

Da eine von MACH (19, 20, 27, 28) isolierte Substanz LC 1 eine bedeutsame Rolle im Ablauf des Stressgeschehens spielen soll, sollten Untersuchungen über die Beeinflussung der Nebennierenrinden- und Nebennierenmarkfunktion durchgeführt werden.

Im Tierversuch an der Ratte bereiten Katecholamin-Blutspiegel-Bestimmungen erhebliche Schwierigkeiten, da die geringen Adrenalin- und Nor-Adrenalinmengen keine genauen Bestimmungen erlauben. Besser zu erfassen ist der Einfluss nebennierenmarkaktivierender Substanzen auf den Katecholamingehalt der Nebennieren. Ein Abfall des Katecholamingehaltes lässt zumindest qualitative Aussagen über eine Katecholamin-Ausschüttung zu.

Mit der beschriebenen Methodik von BRÜGGEMANN, KARG und KÄPPELER (3) ist auch der Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren zu bestimmen.

Nach SAYERS und SAYERS (41) lässt ein Abfall des Ascorbinsäuregehaltes auf eine Aktivierung der Nebennierenrinde schliessen. Es sind demnach mit dieser Methodik Aussagen über den Einfluss der geprüften Substanz auf Nebennierenmark und Nebennierenrinde möglich.

Der in vivo hyaluronidasehemmende Effekt einer Substanz erlaubt nach Untersuchungen von MATHIES (29) weitere Rückschlüsse auf eine Nebennierenmarkaktivierung. Dieser Autor konnte feststellen, dass der hyaluronidasehemmende Effekt entsprechend wirksamer Substanzen an eine Nebennierenmarkfunktion gebunden ist.

Im einzelnen haben die Versuche gezeigt, dass die Hyaluronidasehemmung bei adrenaletomierten Tieren ausbleibt, dagegen bei hypophysektomierten Ratten erhalten ist. Dass hier keine Nebennierenrindenwirkung vorliegt, zeigten Vergleiche mit Versuchen von DOMENJOZ (5) und MATHIES (30). Sie konnten zeigen, dass der Ascorbinsäure-Depletionseffekt der Nebennieren nach hyaluronidasehemmenden Stoffen bei hypophysektomierten Ratten ausbleibt. Da bei hypophysektomierten Tieren aber gleichzeitig die hyaluronidasehemmende Wirkung ausbleibt, ist zu folgern, dass eine nebennierenrindenstimulierende Wirkung wohl vorliegt, aber nicht für den hyaluronidasehemmenden Effekt verantwortlich gemacht werden kann. Es war demnach anzunehmen, dass eine über das Nebennierenmark laufende Wirkung vorliegt.

Diese Vermutung wurde durch Untersuchungen von MATHIES (30) gestützt, nach denen die Nebennierenmarkcatecholamine Adrenalin und Nor-Adrenalin nicht nur bei intakten, sondern auch bei adrenaletomierten Tieren eine Hyaluronidasehemmung gleicher Grössenordnung hervorrufen, wie sie durch hyaluronidasehemmende Stoffe selbst ausgelöst wird.

Weiter haben MATHIES, GLÜCK, POULANTZAS und SCHMIDT (32) zeigen können, dass die Hyaluronidasehemmung entsprechend wirksamer Stoffe nach Gabe von Adrenolytika ausbleibt. Auch ist der hyaluronidasehemmende Effekt des Adrenalins und des Nor-Adrenalins durch Adrenolytika zu blockieren. Diese im Tier-

experiment gewonnenen Ergebnisse konnten durch MATHIES und VOGEL (34) bzw. WEISS (56) auch beim Menschen reproduziert werden.

Nach MATHIES, OESTREICH und SCHWALBACH (33) ist auch durch Ganglienblocker die Wirkung hyaluronidasehemmender Substanzen zu blockieren, nicht dagegen die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins und des Nor-Adrenalins. Da nach EICHHOLTZ (6) die Ganglienblocker das Nebennierenmark als differenziertes Ganglion blockieren, bilden die genannten Versuche eine weitere Stütze für die Annahme einer über das Nebennierenmark laufenden Wirkung der in vivo hyaluronidasehemmenden Stoffe. Ein Nachweis einer hyaluronidasehemmenden Wirkung einer chemischen Substanz erlaubt deshalb Aussagen über eine nebennierenmark-aktivierende Wirkung.

Die angegebene Methodik beruht auf dem Hyaluronidase-Spreading. Die Ergebnisse sind also eindeutiger als Beeinflussung des durch Hyaluronidase gesteigerten Farbstoff-Spreadings zu definieren.

Im einzelnen wurden folgende Versuche durchgeführt:

1. Bestimmung der Wirkung der Substanz LC 1 auf den Katecholamin- und 1-Ascorbinsäuregehalt der Nebenniere (NN).

Versuchszeiten: 20', 40', 60', 80', 100', 120' und 4 1/2 Stunden.

2. Bestimmung der hyaluronidasehemmenden Aktivität von LC 1 (Spreading-Test).

a) Versuchszeiten: 20' und 80'

40' und 60'

120' und 140'

b) Versuchszeiten: 20', 40', 60' und 80'.

Diese Versuche wurden mit älteren und damit grösseren Tieren ausgeführt; es war daher möglich, gleichzeitig 4 Versuchszeiten bei einem Versuchstier zu testen.

3. Bestimmung der akuten Toxizität von LC 1.

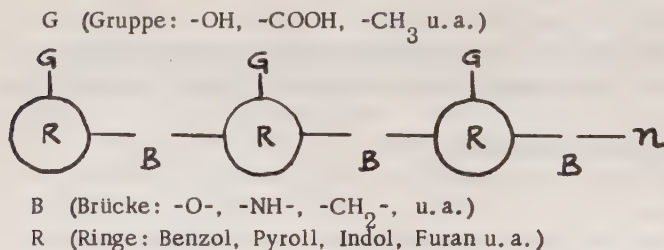
Gewinnung und Chemismus des biogenen Coenzym (LC 1)

Durch eine spezielle Säulenchromatographie isolierten MACH und MACH aus tierischem Frischgewebe (die einer gesteuerten Proteolyse in Gegenwart eines, insbesondere im Bindegewebe vorkommenden, Katalysators bei 37°C unterworfen wurde) kleine Mengen eines als "endokrin hochwirksame Fraktion" bezeichneten Wirkstoffes (19, 20, 27, 28).

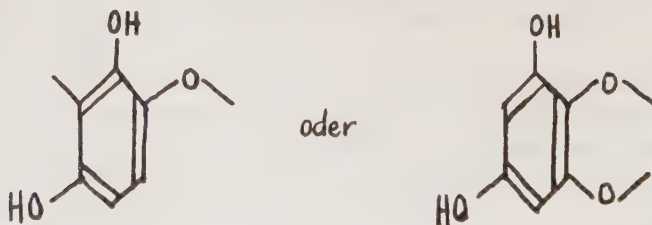
Nach MACH soll sich im gestressten Gewebe, aber auch in allen üblicherweise enteiweissten Organextrakten diese gegen enzymatische Hydrolyse weitgehend resistente Fraktion befinden. Diese nennen sie "Adaptations-aktives Gewebshormon" (AGH), das LC 1.

Die AGH geben eine negative Eiweisreaktion und sind resistent gegen enzymatische Hydrolyse. In reinem Zustand zeigen sie keine durch Säure abspaltbare Aminosäuren. Das Molekulargewicht liegt um 1100. Der Stickstoffgehalt beträgt 3%. Diese Substanz ist nicht identisch mit dem "Core" (Antipeptone von KÜHN u. Mitarb.), dessen Molekulargewicht zwischen 3000 und 4000 und dessen Stickstoffgehalt 14% beträgt (26).

Nach Untersuchungen von MACH stellen die FMS anionische Polykondensate dar, und zwar vermutlich kaum Homo- sondern Hetero-Polykondensate nach folgendem Schema:



Dem einzelnen Baustein kommt demnach z. B. folgende Formel zu:



In sehr hoher Verdünnung zeigte dieses AGH (LC 1) am Menschen und am Tier die Eigenschaft, charakteristische Symptome des allgemeinen Anpassungs-Syndroms hervorzurufen. Auf Grund dieser Tatsachen und des nunmehr ermittelten chemischen Bauplanes dieser Fraktion schliessen diese Forscher, dass die untersuchte Substanz "mit der bisher hypothetischen FMS identisch sei" bzw. ein solches darstellt (27, 28, 45, 46).

Es war daher die Aufgabe dieses Versuches den Einfluss dieser Substanz (LC 1) auf die Nebennieren im Sinne des Stressmechanismus von SELYE zu prüfen.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Versuchsreihe 1: Bestimmung der Wirkung von LC 1 auf den Katecholamin- und l-Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren.

Methodik

Die Untersuchungen wurden mit der von BRÜGGEMANN, KARG und KÄPPELER (3) angegebenen Methodik an männlichen weissen Ratten im Gewicht von 84 bis 195 g ohne Narkose durchgeführt.

Die Bestimmungen des Katecholamin- und Ascorbinsäuregehaltes erfolgten ohne (Kontroll-Gruppe) und zu verschiedenen Zeiten (Versuchs-Gruppe) nach subkutaner Injektion von 0,01 ccm der zu prüfenden Substanz (LC 1). Die Tiere wurden zu den betreffenden Zeitpunkten durch einen momentanen Hals-Knick getötet, dekapitiert und unmittelbar danach beide Nebennieren entnommen. Diese wurden sorgfältig vom umgebenden Gewebe befreit und gewogen.

Anschliessend wurden die Nebennieren in einem Zentrifugenglas, in dem 5 ml 4%-Trichloressigsäure vorgelegt waren, mit etwa 50 mg Celite 535 und etwas Quarzsand mit einem Glasstab zerrieben. Anschliessend wurde 15 min bei etwa 4000 Umdrehungen zentrifugiert und dann der Überstand abgegossen. Von der erhaltenen Flüssigkeit wurden 2 mal je 2 ml in ein Reagenzglas abpipettiert. Zu jeder der beiden Proben wurden 0,1 ml Bromwasser (gesättigte Lösung: 3,5 g ad 100 ml Aq. dest.) und nach kurzem Schütteln innerhalb 5 - 10 sec. 0,1 ml Anilin (3 Vol. % in 9 n Schwefelsäure) gegeben. Nach erneutem Schütteln wurden 0,5 ml di-Nitrophenylhydrazin (in 2% Lösung von 9 n H_2SO_4) zugegeben. Anschliessend wurde eine Probe für 5 min in ein siedendes Wasserbad gestellt (Probe I). Die andere Probe wurde solange nicht behandelt (Probe II). Danach wurden beide Proben (I und II) für ebenfalls 5 min in einem kalten Wasserbad belassen und darin 5 ml 70% Schwefelsäure zu beiden Proben zugegeben. Anschliessend wurde geschüttelt. Die Proben wurden nach 5 min aus dem kalten Wasserbad genommen.

Im ELKO-II-Photometer mit Filter 530 m μ unter Verwendung einer 1,005 ccm Kuvette wurde die Extinktion gegen Blindwert gemessen. Dieser wurde durch das gleiche Verfahren aber ohne Nebenniere ermittelt.

Gewinnung der Eichkurve

Zur Umrechnung der Extinktionswerte war die Anfertigung einer Eichkurve (Abb. 2) erforderlich.

Diese wurde mit bestimmten Adrenalinmengen, bzw. l-Ascorbinsäuremengen (12,5 γ ; 25,0 γ ; 50,0 γ ; 75,0 γ ; 100,0 γ) statt der Nebenniere unter Anwendung der gleichen Methodik von BRÜGGEMANN, KARG und KÄPPELER gewonnen.

Adrenalin und Nor-Adrenalin ergeben bei dieser Methodik die gleichen Extinktionswerte. Das Ergebnis der Katecholaminbestimmung resultiert demnach aus dem jeweiligen Gehalt an Adrenalin und Nor-Adrenalin zusammen. Die Probe I

entspricht dem Katecholamin+Ascorbinsäuregehalt (Tabelle 3), die Probe II dem Katecholamingehalt allein (Tabelle 1).

Durch Subtraktion des Extinktionswertes der Probe II von Probe I wird demnach der Extinktionswert erhalten, der für den Ascorbinsäuregehalt massgebend ist (Tabelle 2). Nach HÖKFELT (12) ist der absolute Katecholamingehalt auf das Tiergewicht, der Ascorbinsäuregehalt auf das Nebennierengewicht zu beziehen. Wir haben die Katecholaminwerte auf 100 g Tiergewicht und den Ascorbinsäuregehalt auf mg Nebennierengewicht umgerechnet.

Versuchsanordnung und Ergebnisse

Es wurden die Katecholamin- und Ascorbinsäure-Bestimmungen in 8 einzelnen Versuchsreihen durchgeführt:

ohne LC 1 Gabe:	Tabelle 4 (Kontroll-Gruppe)
20 min nach LC 1 Gabe:	Tabelle 5
40 min nach LC 1 Gabe:	Tabelle 6
60 min nach LC 1 Gabe:	Tabelle 7
80 min nach LC 1 Gabe:	Tabelle 8
100 min nach LC 1 Gabe:	Tabelle 9
120 min nach LC 1 Gabe:	Tabelle 10
4 1/2 Stunden nach LC 1 Gabe:	Tabelle 11

Versuchsreihe 2: Bestimmung der hyaluronidasehemmenden Aktivität von LC 1 (Spreading-Test).

Methodik

Es wurden männliche Ratten im Gewicht von 120 bis 210 g verwendet. Die Durchführung der Versuche erfolgte in Evipan-Narkose (0,3 g Evipan-Natrium/100 g Tier subkutan). Nach WILHELMI (57) besteht kein störender Einfluss der Barbiturate auf die Aktivität der Hyaluronidase (Kinetin^R).

Es wurde vor und zu verschiedenen Zeiten nach subkutaner Injektion von 0,01 ccm LC 1 je eine intrakutane Quaddel von 0,1 ccm einer 0,06%igen Evansblau-Lösung (Farbstoff) und eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel in die vorher mit Pilca enthaarte Bauchhaut gesetzt. Zur Herstellung der Farbstoff+Hyaluronidase-Lösung wurden 150 I.E. einer hochgereinigten Testeshyaluronidase in 2 ccm der oben genannten Evansblau-Lösung gelöst, so dass bei der Injektion von 0,1 ccm 7,5 I.E. Hyaluronidase (= 0,5 Schering Einheiten) zur Wirkung kamen. Das Setzen von Quaddeln erfolgte streng intrakutan mit einer dünnen Kanüle (Nr. 20). Ausgewertet wurde die jeweils nach 10 min erreichte Ausbreitung der Farbstoff-Flecken. Die Konturen wurden auf einen Filmstreifen (gewaschene alte Röntgen-Filme) zunächst mit Ölstift und dann mit Nadel übertragen und der Flächeninhalt planimetrisch bestimmt.

Bei jedem Versuchstier wurden von jedem Quaddeltypus (Farbstoff und Farbstoff+Hyaluronidase) je eine Quaddel vor (F_v ; FH_v) (Kontrollquaddeln) und zu zwei

verschiedenen Bestimmungszeiten nach LC 1-Injektion gesetzt (F_t ; FH_t , wobei $t = 40, 60, 20, 80, 120, 140$ min bedeutet).

Die Einwirkung auf die Ausbreitung der Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln gegenüber dem jeweiligen Wert wurde:

40 und 60 min	Ergebnisse Tabelle 12
20 und 80 min	Ergebnisse Tabelle 13
120 und 140 min	Ergebnisse Tabelle 14
20, 40, 60 und 80 min (selbes Tier)	Ergebnisse Tabelle 15 bestimmt.

Berechnung der hemmenden Aktivität von LC 1 auf das Hyaluronidase-Spreading

1. Quaddel-Grösse vor Injektion von LC 1 (mm^2)

Von Farbstoff (Evansblau) allein	=	F_v
Von Farbstoff+Hyaluronidase	=	FH_v
=) von Hyaluronidase allein	=	$FH_v - F_v$
2. Quaddel-Grösse nach Injektion von LC 1 (mm^2)

Von Farbstoff nach Zeit t min	=	F_t
Von Farbstoff+Hyaluronidase	=	FH_t
=) von Hyaluronidase allein	=	$FH_t - F_t$
3. =) Hemmung des Spreading durch LC 1 = $(FH_v - F_v) - (FH_t - F_t)$.

=) %-Hemmung	=	$\frac{(FH_v - F_v) - (FH_t - F_t) \cdot 100}{(FH_v - F_v)}$
--------------	---	--
4. Wenn $F_v = F_t$, weil LC 1 das Farbstoff-Spreading praktisch nicht hemmt,

dann ist %-Hemmung	=	$\frac{FH_v - FH_t}{FH_v - F_v} \cdot 100\%$
--------------------	---	--

Versuchsreihe 3: Bestimmung der akuten Toxizität von LC 1

Die Untersuchungen wurden an 4 männlichen weissen Ratten im Gewicht von 230 bis 280 g durchgeführt. Die Tiere erhielten über drei Tage das Präparat in täglich ansteigenden Dosen von 0,5 - 5,0 Ampullen zu je 1 ccm LC 1 täglich.

Es wurde also die fünffache Menge der beim Menschen therapeutisch angewandten Dosierung von den Tieren vertragen.

STATISTISCHE AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

1. Statistisches Modell und Methodik

Der statistischen Auswertung der Versuche über die hyaluronidasehemmende Aktivität von LC 1 liegt ein grundsätzlich anderes statistisches Modell zugrunde als der Auswertung der Versuche über den Katecholamin- bzw. Ascorbinsäuregehalt. Im Folgenden wird zunächst das statistische Modell und die Methodik besprochen werden, die wir der Auswertung der Versuche über die hyaluronidasehemmende Aktivität von LC 1 zugrunde legten; anschliessend besprechen wir das statistische Modell und die Methodik, welche der Auswertung der Versuche über den Katecholamin- bzw. Ascorbinsäuregehalt zugrunde gelegt wurde.

a) Versuche über die hyaluronidasehemmende Aktivität von LC 1

Primäre Aufgabe der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse war es, die experimentelle Variabilität zu bestimmen. Die Gesamt-Variabilität der Versuchsergebnisse wird hierbei zunächst in Komponenten zerlegt, die den einzelnen systematischen Faktoren entsprechend, welche das Versuchsergebnis beeinflussen. Derjenige Anteil der Gesamt-Variabilität, der sich dabei nicht als Folge der systematischen Faktoren erklären lässt, wird als Schätzung der experimentellen Variabilität aufgefasst. Es können hierbei jedoch nur solche systematischen Faktoren erfasst werden, die bereits bei der Planung der Versuche entsprechend berücksichtigt wurden.

Bei der hier vorliegenden Versuchsanordnung konnten folgende systematischen Faktoren bei der statistischen Analyse berücksichtigt werden:

Individuelles Reaktionsniveau der Versuchstiere;

Wirkung der "Verfahren".

Dabei verstehen wir unter einem "Verfahren" diejenigen Quaddeln des gleichen Typus, die innerhalb einer Versuchsreihe zum gleichen Zeitpunkt gesetzt wurden.

Zur Bestimmung der Variabilitäten, die zu diesen systematischen Faktoren gehören, bedienten wir uns einer mehrfachen Varianz-Analyse. Diesen Varianz-Analysen liegt ein lineares statistisches Modell zugrunde, bei dem angenommen wird, dass sich die Wirkung der einzelnen Faktoren in additiver Form unabhängig überlagert. Der Einfluss, den die einzelnen systematischen Faktoren auf die Gesamt-Variabilität haben, ergibt sich in den Varianz-Analysen in Form von "Varianz-Komponenten", die den einzelnen systematischen Faktoren entsprechen. Die Schätzungen der experimentellen Variabilität liefern die Varianz-Analysen in Form der "Rest-Varianz".

Ein systematischer Faktor hat nur dann einen statistisch gesicherten Einfluss auf die Versuchsergebnisse, wenn die zugehörige Varianz-Komponente statistisch grösser ist als die experimentelle Variabilität (Rest-Varianz). Ob dies der Fall ist, wird in den Varianz-Analysen durch einen Vergleich dieser Varianz-Komponenten mit Hilfe des F-Testes geprüft.

Entsprechend der Fragestellung, die den Versuchen zugrunde lag, interessierte hier primär nur der Einfluss, den die Verfahren auf die Diffusionsgeschwindigkeit der Quaddeln ausüben. Hierbei war zunächst zwischen den beiden Quaddel-Typen zu unterscheiden; ausserdem war für jeden Quaddel-Typus einzeln zu prüfen, ob statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den Kontrollen und den Versuchszeiten selbst andererseits bestehen. Diesen Fragestellungen entspricht in den Varianz-Analysen je eine "orthogonale Komponente" der Varianz-Komponente, die zu dem systematischen Faktor "Verfahren" gehört. Ein statistisch gesicherter Einfluss der Prüfsubstanz auf die Diffusionsgeschwindigkeit eines Quaddel-Typus liegt nur dann vor, wenn mindestens eine der zwei orthogonalen Komponenten, die zu diesem Quaddel-Typus gehören, statistisch gesichert grösser ist als die Rest-Varianz. Die Prüfung dieser Frage wurde ebenfalls mit Hilfe des F-Tests durchgeführt.

Das lineare statistische Modell und somit die Varianz-Analyse lässt keinen Schluss auf die absolute Wirksamkeit eines "Verfahrens" zu; es ist vielmehr nur möglich, den Unterschied in der Wirksamkeit je zweier "Verfahren" statistisch zu prüfen. Die Grösse dieses Unterschiedes wird dabei auf folgende Weise geschätzt: Es sei hierzu $\bar{x}(V)$ das arithmetische Mittel aller Messwerte, die für das Verfahren V beobachtet wurden. Die Differenz zwischen den Mittelwerten, die zu zwei verschiedenen Verfahren gehören, ist dann eine optimale Schätzung für den Unterschied in der "Wirkung" der Verfahren; gemessen wird hierbei die Differenz in der Diffusionsgeschwindigkeit, die zu diesen beiden Verfahren gehören. Bei der Fragestellung, die den Versuchen zugrunde lag, interessierte hier primär der Unterschied

$$\delta \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K)$$

zwischen den Versuchszeiten t und der Kontrolle K. Im Prinzip wird in der Varianz-Analyse nichts anderes geprüft als die Frage, ob diese Mittelwertsdifferenzen $\delta \bar{x}(t)$ statistisch gesichert von 0 verschieden sind.

b) Versuche über den Katecholamin- bzw. Ascorbinsäuregehalt

Im Folgenden bezeichnen wir diejenigen Tiergruppen, die unter den gleichen Versuchsbedingungen dekapitiert wurden, jeweils als eine "Versuchsstufe". Bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse gingen wir dann von der Annahme aus, dass hinsichtlich des Katecholamin- bzw. Ascorbinsäuregehaltes in jeder der Versuchsstufen eine Normalverteilung vorliegt, wobei die in jeder Stufe beobachteten Versuchstiere eine Stichprobe aus dieser Normalverteilung darstellen. Jede Normalverteilung ist eindeutig gekennzeichnet durch ihren Erwartungswert μ und ihre Varianz σ^2 . Um das Verhalten des Katecholamin- bzw. des Ascorbinsäuregehaltes innerhalb der einzelnen Versuchsstufen zu charakterisieren, war es daher notwendig, aus den Versuchsergebnissen Schätzwerte für diese beiden Parameter der zugehörigen Normalverteilung zu gewinnen. Als Schätzwerte für den Erwartungswert μ wählten wir das arithmetische Mittel $\bar{x}$ der Messwerte, die in den einzelnen

Versuchsstufen beobachtet wurden; als Schätzwert für die Varianz σ^2 wählten wir die empirische Varianz s^2 zwischen diesen Werten.

Die Normalverteilungen, die zu den einzelnen Versuchsstufen gehören, können sich sowohl hinsichtlich der Grösse ihrer Erwartungswerte als auch hinsichtlich der Grösse ihrer Varianzen unterscheiden. Wir untersuchten zunächst, ob Unterschiede hinsichtlich der Varianzen vorliegen. Hierzu wurde die Hypothese geprüft, dass die in den einzelnen Versuchsstufen beobachteten empirischen Varianzen s^2 alles Schätzwerte der gleichen, von den Versuchsstufen unabhängigen Varianz σ^2 sind. Als Test zur Prüfung dieser Hypothese wählten wir den Bartlett-Test an. Dieser führt zu einer Prüfgrösse $\chi^2_{\text{emp.}}$, die im vorliegenden Falle wie Chi-Quadrat von $n = 7$ Freiheitsgraden verteilt ist, wenn die Prüfhypothese zutrifft.

Zur Prüfung der Frage, ob Unterschiede zwischen den Erwartungswerten der Normalverteilungen, die zu den einzelnen Versuchsstufen gehören vorliegen, führten wir Varianz-Analysen durch. Die Varianz innerhalb der einzelnen Versuchsstufen fassten wir dabei als einen Ausdruck für die biologische Variabilität zwischen den Versuchstieren auf. Sie musste daher als "experimentelle Variabilität" der weiteren statistischen Auswertung zugrunde gelegt werden. Etwaige Unterschiede zwischen den Erwartungswerten der einzelnen Versuchsstufen drücken sich in den Varianz-Analysen in der Varianz-Komponente "zwischen den Stufen" aus; nur wenn diese Varianz-Komponente statistisch gesichert wesentlich grösser ist als die "Varianz innerhalb der Stufen" kann behauptet werden, dass zwischen den Erwartungswerten der einzelnen Versuchsstufen Unterschiede vorliegen, die nicht mehr ausschliesslich durch die biologische Variabilität zwischen den Tieren erklärbar ist. Der Varianz-Quotient, der zur "Varianz zwischen den Stufen" gehört, dient zur Prüfung dieser Frage.

Durch eine orthogonale Zerlegung der "Varianz zwischen den Stufen" prüften wir weiter, ob statistisch gesehen Unterschiede zwischen den Kontrollgruppen und den Versuchsgruppen einerseits bzw. zwischen den einzelnen Versuchsgruppen selber andererseits vorliegen. Das Prinzip dieser orthogonalen Zerlegungen entspricht vollständig demjenigen, das bereits weiter oben bei der Besprechung der statistischen Auswertung der Versuche über die Hyaluronidasehemmung erörtert wurde.

2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Das Ergebnis der durchgeführten Varianz-Analysen haben wir in den Tabellen 17 - 22 dargestellt. Es bedeutet in den Schemata der Varianz-Analysen:

- n: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
- SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- $F_{\text{emp.}}$: der Varianz-Quotient zwischen der jeweiligen Varianz-Komponente und der experimentellen Variabilität;
- p: die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

In den Tabellen 17 - 20 finden sich für die Versuche über die Hyaluronidasehemmung ebenfalls die Mittelwerte $\bar{x}(V)$ der an den Versuchstieren beobachteten Werte der einzelnen Verfahren, die empirischen Varianzen $s^2(V)$ zwischen diesen Werten und die Mittelwertsdifferenzen $\delta \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K)$. Soweit sich aus den Varianz-Analysen ergeben hat, dass die Diffusionsgeschwindigkeiten zu den einzelnen Zeitpunkten einer Versuchsreihe von derjenigen der Kontrolle statistisch gesichert verschieden sind, haben wir in diesen Tabellen auch das Ergebnis des orthogonalen Vergleiches angegeben, welcher zur Prüfung dieses Unterschiedes durchgeführt wurde. Hierzu wurde in der mit "Sicherung" überschriebenen Spalte angeführt, mit welcher Irrtumswahrscheinlichkeit behauptet werden kann, die betreffende Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$ sei gesichert von 0 verschieden. Nur wenn diese Irrtumswahrscheinlichkeit nicht grösser als 5% ist, kann behauptet werden, dass zu dem betreffenden Zeitpunkt eine statistisch gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit des betreffenden Quaddel-Typus gegenüber der Kontrolle vor Applikation der Prüfsubstanz vorliegt. Eine ausreichende statistische Sicherung für diese Behauptung liegt allerdings erst dann vor, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit nicht grösser ist als 1%. Schliesslich enthalten diese Tabellen noch die in üblicher Weise berechnete prozentuale Hemmung für jeden Zeitpunkt des Versuches.

Für die Versuche über den Katecholamin- bzw. Ascorbinsäuregehalt haben wir in den Tabellen 21 - 22 noch für jede Versuchsstufe den Mittelwert $\bar{x}$ und die Varianz s^2 angegeben. Ausserdem findet sich am Fuss dieser Tabelle das Ergebnis des Bartlett-Tests; es ist dort die Grösse des Prüfwertes $\chi^2_{\text{emp.}}$ und die Überschreitungswahrscheinlichkeit, welcher dieser Prüfgrösse in der zugehörigen Prüfverteilung zukommt, angegeben.

Um den zeitlichen Ablauf der Veränderungen des mittleren Katecholamin- bzw. Ascorbinsäuregehaltes darzustellen, haben wir in der Tabelle 23 die Veränderungen der Mittelwerte gegenüber den Leerwerten zu den Versuchszeiten und zwischen den einzelnen Versuchszeiten selber dargestellt. Die in diesen Tabellen oberhalb der Diagonalen angeführten Werte stellen die Mittelwertsdifferenz zu der am Kopf einer Spalte stehenden Versuchsstufe gegenüber der am Anfang der Zeile stehenden Versuchsstufe dar. Unterhalb der Diagonalen haben wir dann an der analogen Stelle angegeben, ob die betreffende Mittelwertsdifferenz statistisch gesichert von 0 verschieden ist, d. h. ob die Veränderung des Mittelwertes zwischen den beiden Versuchsstufen statistisch gesichert werden kann.

3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung

a) Versuche über die hyaluronidasehemmende Aktivität

Aus der statistischen Analyse konnten keine Hinweise dafür gewonnen werden, dass die Substanz LC 1 einen Einfluss auf die Diffusionsgeschwindigkeit der reinen Farbstoff-Quaddel ausübt. Bei keiner der Versuchsreihen (1 und 2) bzw. deren Teilversuchsreihen liegt eine statistisch gesicherte Veränderung der reinen Farbstoff-Quaddel zu den Versuchszeiten gegenüber der Kontrolle vor. Hinsichtlich des Ein-

flusses der Substanz LC 1 auf die Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel ergab die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse, dass zu sämtlichen Versuchszeiten eine statistisch hoch gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit dieses Quaddel-Typus gegenüber der entsprechenden Kontroll-Quaddel vorliegt (Irrtumswahrscheinlichkeit in jedem Falle kleiner als 0,1%). Das Vorzeichen und die Grösse der Mittelwertsdifferenz $\bar{x}(t)$ zeigt an, dass es sich hierbei um eine Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel handelt; die Grösse dieser Hemmung nimmt bis zum Zeitpunkt 60' stetig zu, um dann zum Zeitpunkt 80' etwas abzufallen und anschliessend zu dem Zeitpunkt 140' nochmals anzusteigen.

Bei der Versuchsreihe 2, bei der die Versuchszeiten 20', 40', 60' und 80' an den gleichen Tieren getestet wurden, sind zwar die Mittelwertsdifferenzen $\bar{x}(t)$ für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln etwas grösser als zu den entsprechenden Zeiten der Versuchsreihe 1; der zeitliche Verlauf der Hyaluronidase-Hemmung ist jedoch in beiden Versuchsreihen gleich. Die Vergrösserung der Mittelwertsdifferenzen in der Versuchsreihe 2 kann durchaus eine Folge der Tatsache sein, dass die Tiere dieser Versuchsreihe wesentlich älter und damit grösser waren als die Tiere der anderen Versuchsreihe.

b) Versuche über den Katecholamin- bzw. Ascorbinsäuregehalt

Zunächst sei das Ergebnis des Bartlett-Tests besprochen. Weder bei den Versuchen über den Katecholamingehalt noch bei den Versuchen über den Ascorbinsäuregehalt führt dieser Test zu einer Prüfgrösse, deren Überschreitungswahrscheinlichkeit kleiner als 5% ist. Dies bedeutet, dass sich aus den Versuchen kein statistischer Anhalt dafür ergibt, dass innerhalb der einzelnen Versuchsstufen die biologische Variabilität der Tiere dieser Versuchsstufen untereinander verschieden ist. Dies besagt, dass die Substanz LC 1 keinen statistisch fassbaren Einfluss auf die biologische Variabilität der Tiere ausübt. Etwaige Wirkungen der Substanz können sich somit nur in einer generellen Verschiebung der Mittelwerte der einzelnen Versuchsstufen äussern.

Zur Prüfung dieser Mittelwertsunterschiede dienten die Varianz-Analysen. Sie führten zu dem Ergebnis, dass sowohl bei dem Katecholamingehalt als auch bei dem Ascorbinsäuregehalt statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den Versuchsstufen vorliegen (Irrtumswahrscheinlichkeit maximal 1% bzw. 5%). Die Durchführung der orthogonalen Zerlegung der "Varianz zwischen den Stufen" ergab im einzelnen folgende Ergebnisse.

Bei den Versuchen über den Katecholamingehalt liegt der mittlere Katecholamingehalt innerhalb der Versuchsgruppen während des gesamten Zeitraumes von 4 1/2 Stunden annähernd so hoch wie in der Kontrollgruppe (Varianz-Komponente "zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen"). Es zeigt sich allerdings, dass zwischen den einzelnen Zeitpunkten, zu denen die einzelnen Versuchsgruppen gehören, statistisch hoch gesicherte Unterschiede in den Differenzen der Mittelwerte vorliegen. Zunächst findet ein Abfall des Katecholamingehaltes statt, der

seinen kleinsten Wert zum Zeitpunkt 60' annimmt um anschliessend nochmals anzusteigen und wieder abzufallen. Diese Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen konnten statistisch gesichert werden (Varianz-Komponente "zwischen Versuchsgruppen"). Der Tabelle 23 kann entnommen werden, zwischen welchen Zeitpunkt speziell statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den Mittelwerten bestehen.

Bei den Versuchen über den Ascorbinsäuregehalt konnte zwischen den einzelnen Versuchsgruppen kein statistisch gesicherter Unterschied nachgewiesen werden (Varianz-Komponente "zwischen Versuchsgruppen"); dagegen liegt ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und dem mittleren Ascorbinsäuregehalt der Versuchsgruppen vor (Varianz-Komponente "zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen"). Es zeigt sich, dass während des gesamten Versuchszeitraumes von 4 1/2 Stunden die Versuchsgruppen einen höheren Ascorbinsäuregehalt besitzen als die Kontrollgruppe; zwischen den Versuchsgruppen ist innerhalb dieser 4 1/2 Stunden kein statistisch gesicherter Unterschied nachweisbar. Auch hier können die Einzelheiten über die Mittelwertsdifferenzen der Tabelle 23 entnommen werden.

VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN

	Seite
Abbildung 1: Übersicht über den Stressmechanismus (modifiziert und ergänzt nach SELYE (46), SULMAN (52) und WRIGHT (57))	32
Abbildung 2: Eichkurve für Adrenalin und l-Ascorbinsäure (Elko-II Photometer)	33
Abbildung 3: Kurven der hyaluronidasehemmenden Aktivität von LC 1 und der Wirkung des LC 1 auf den Katecholamin- und l-Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren	34
Abbildung 4: Kurve des prozentualen Anstiegs bzw. Abnahme des Katecholamin- und l-Ascorbinsäure-Gehaltes (nach LC 1-Applikation) bezogen auf den Leerwert (Ausgangswert)	35
Abbildung 5: Typen der Reaktion der Nebennierenrinde auf Stress (nach SAYERS und SAYERS)	36
Abbildung 6: Struktur der Nebennieren - Katecholamin und -Corticoide	37

ABBILDUNG 1
Übersicht über den Stressmechanismus

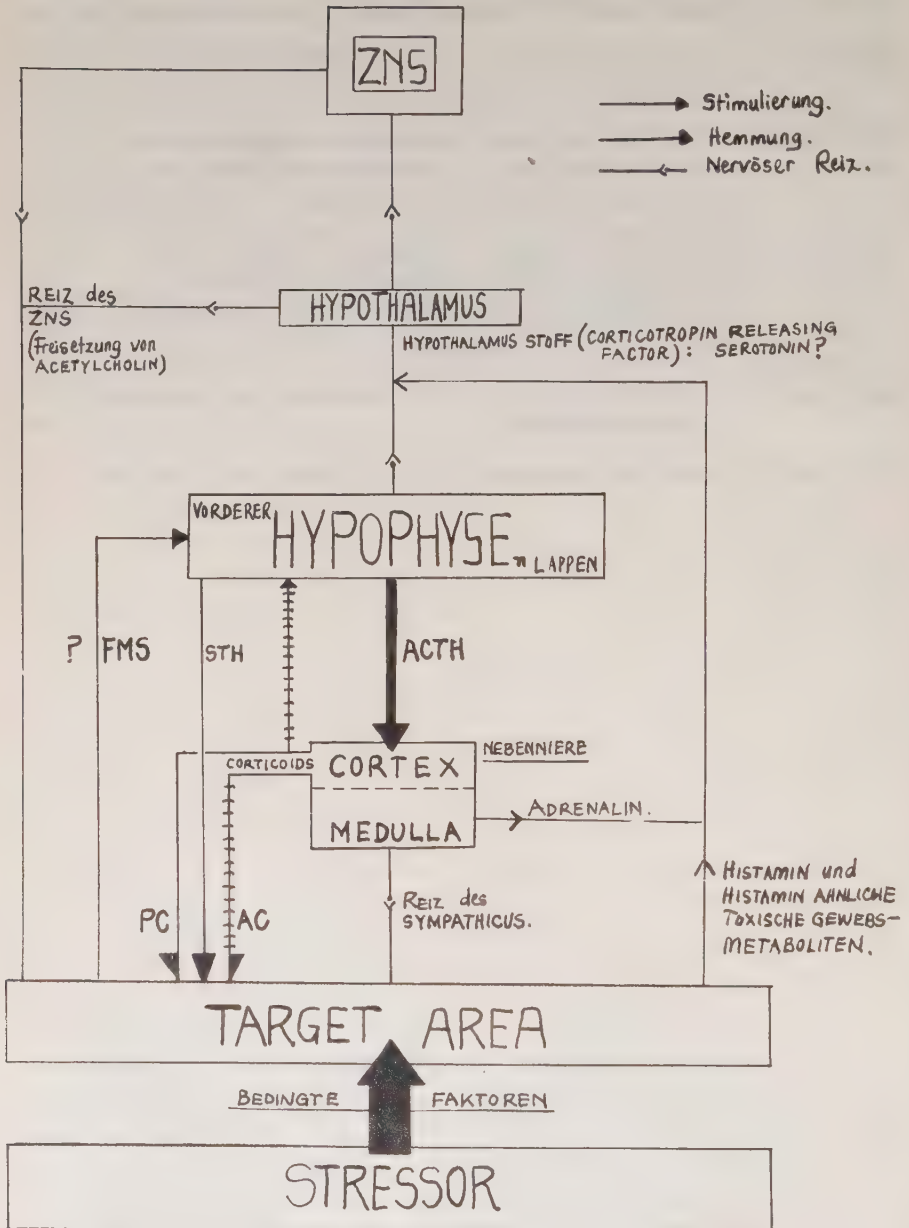


ABBILDUNG 2
Gewinnung der Eichkurve

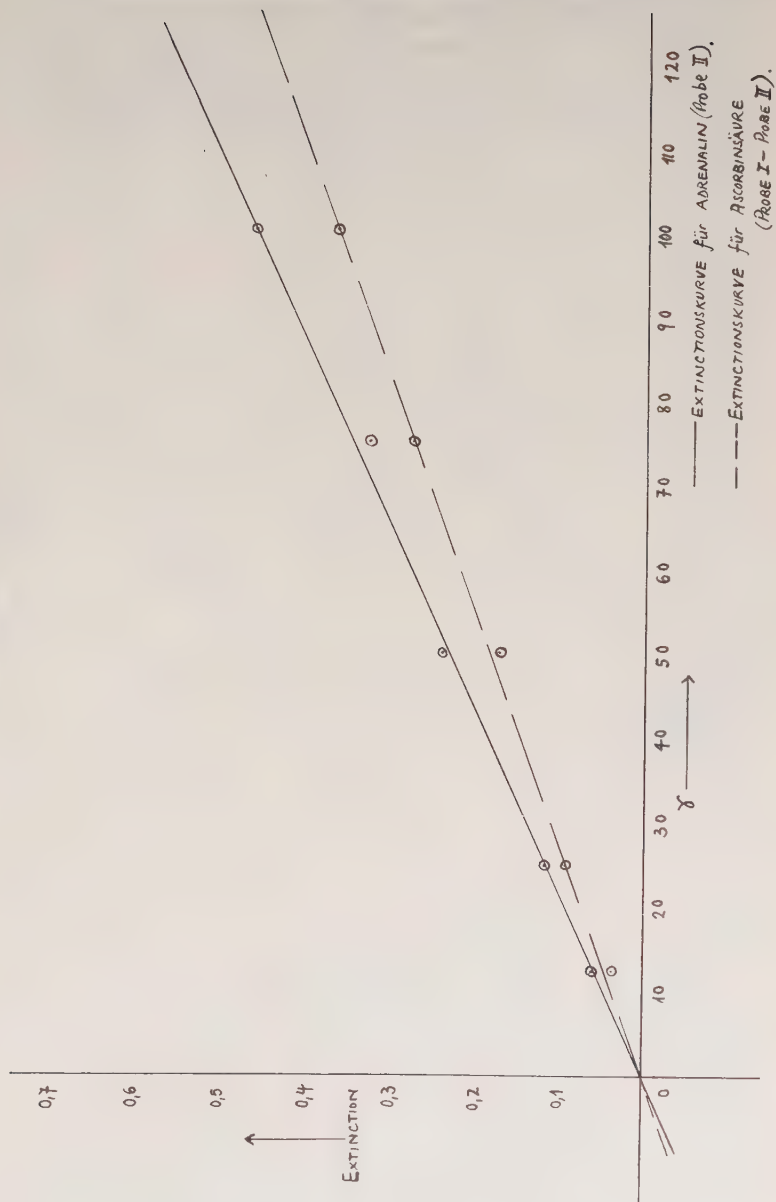


ABBILDUNG 3

1. Hyaluronidasehemmende Aktivität von LC 1
2. Wirkung der LC 1 auf Katecholamingehalt der Nebennieren
3. Wirkung der LC 1 auf 1-Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren

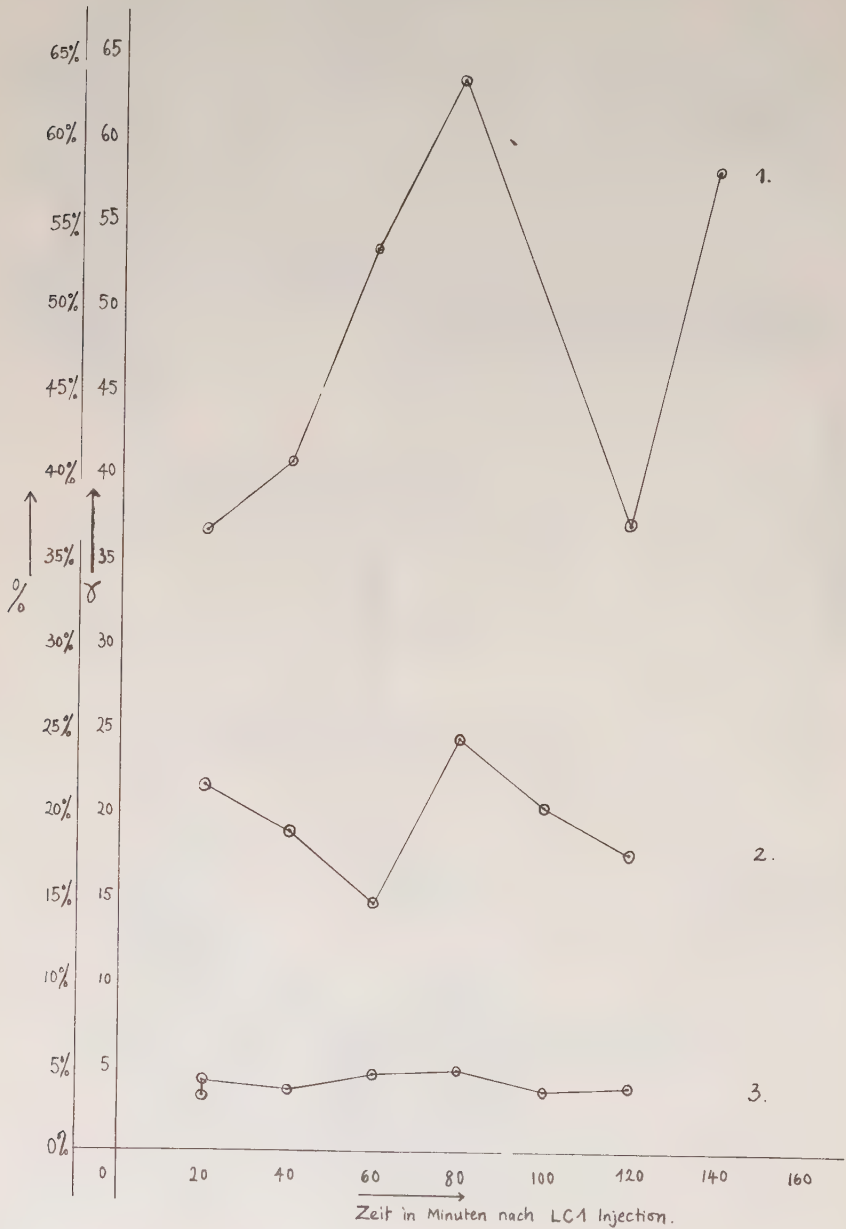


ABBILDUNG 4

1. — Prozentualer Anstieg bzw. Abnahme des l-Ascorbinsäuregehaltes (nach LC 1 Applikation) bezogen auf den Leerwert (Ausgangswert)
2. — Prozentualer Anstieg bzw. Abnahme des Katecholamingehaltes (nach LC 1 Applikation) bezogen auf den Leerwert (Ausgangswert)
3. - - - Hyaluronidasehemmende Aktivität von LC 1
4. - - - Hyaluronidasehemmende Aktivität von LC 1 auf das Hyaluronidase-Spreading (am gleichen Tier ausgeführt)

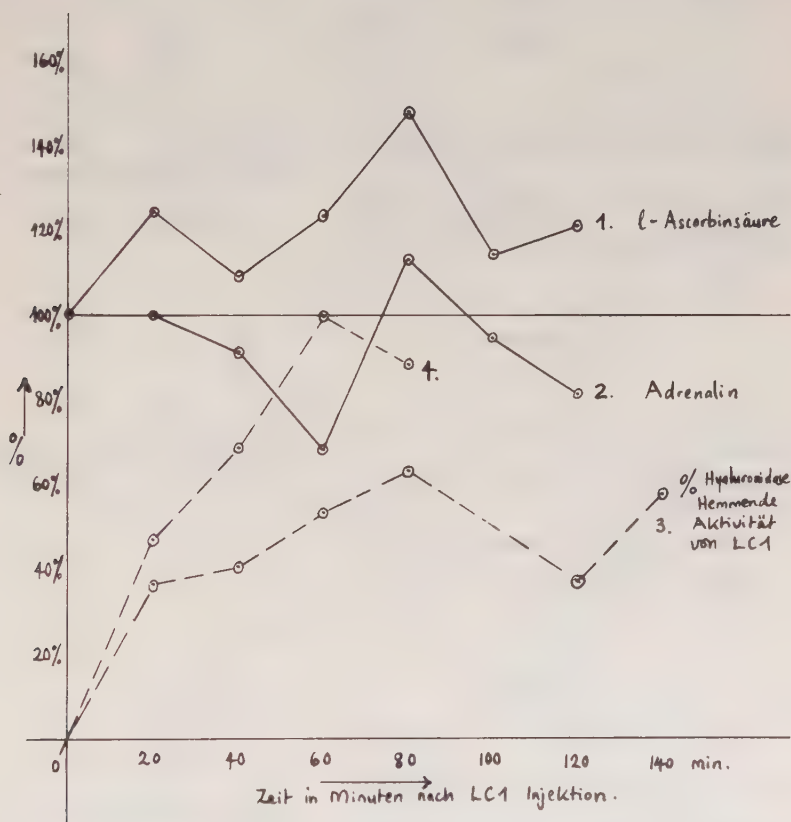


ABBILDUNG 5

Typen der Reaktion der Nebennierenrinde auf Stress
(Response of Adrenal Cortex to Stress, nach SAYERS and SAYERS,
Recent Progress Hormone Research, 1948, 2, 81.)

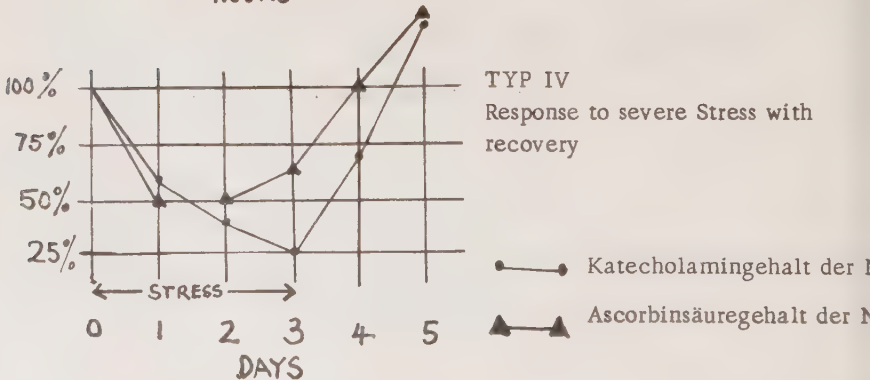
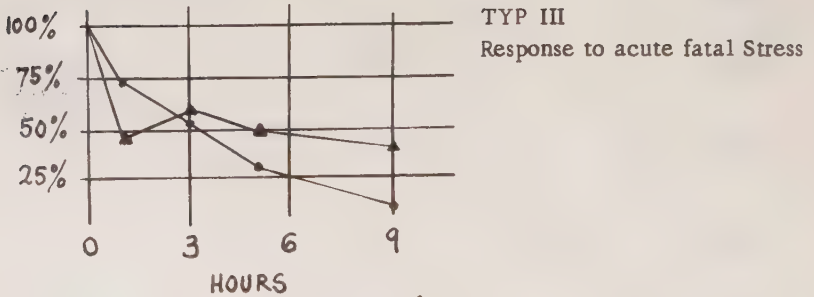
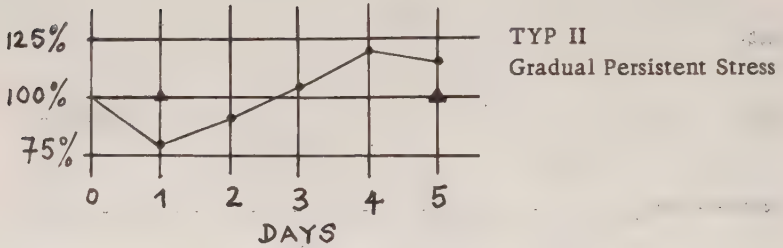
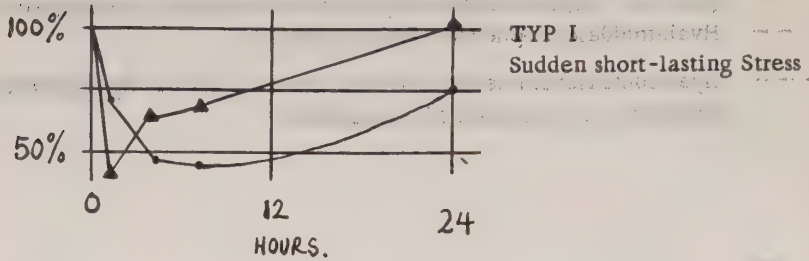
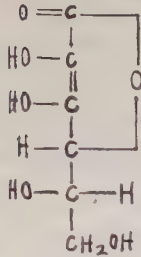
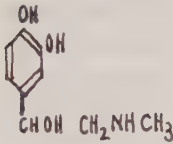


ABBILDUNG 6

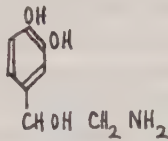
Struktur der Nebennieren - Katecholamin und -Corticoide



L-Ascorbinsäure (Vitamin C).



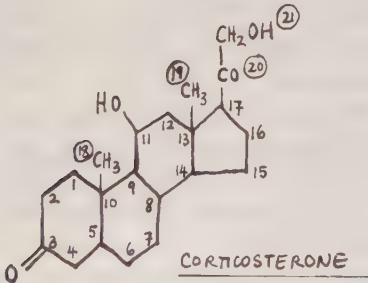
ADRENALIN



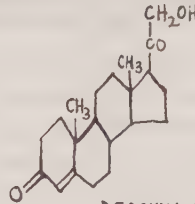
NOR-ADRENALIN



SEROTONIN.

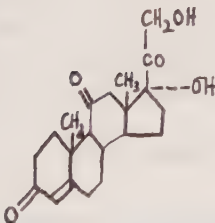


CORTICOSTERONE



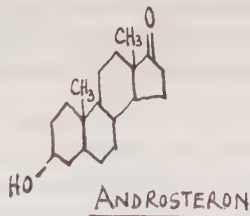
DESOXYCORTICOSTERONE (DOC)

DESOXYCORTONE

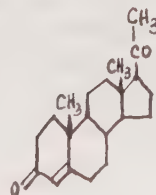


CORTISONE

Kendalls Compound E
11-dehydro-17-hydroxy
Corticosteron.



ANDROSTERON



PROGESTERONE

Tabelle:

	Gewinnung der Eichkurve	
1	Extinktionswerte für Adrenalin (Probe II)	39
2	Extinktionswerte für l-Ascorbinsäure (Probe I - Probe II)	39
3	Gesamtextinktionswerte für Adrenalin und l-Ascorbinsäure	39
	Bestimmung der Wirkung von LC 1 auf den Katecholamin- und l-Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren	
4	Ergebnisse des Kontroll-Versuches ohne LC 1-Applikation	40
5	20 min nach subkutan Injektion von 0,01 ccm LC 1	41
6	40 min nach subkutan Injektion von 0,01 ccm LC 1	42
7	60 min nach subkutan Injektion von 0,01 ccm LC 1	43
8	80 min nach subkutan Injektion von 0,01 ccm LC 1	44
9	100 min nach subkutan Injektion von 0,01 ccm LC 1	45
10	120 min nach subkutan Injektion von 0,01 ccm LC 1	46
11	4 1/2 Std. nach Injektion von 0,01 ccm LC 1 s.c.	46
	Hyaluronidasehemmende Aktivität von LC 1 auf das Hyaluronidase-Spreading	
12	40 min bzw. 60 min nach LC 1-Injektion von 0,01 ccm s.c.	47
13	20 min bzw. 80 min nach LC 1-Injektion von 0,01 ccm s.c.	47
14	120 min und 140 min nach LC 1-Injektion von 0,01 ccm s.c. ...	48
15	20, 40, 60 und 80 min nach LC 1-Applikation (alle 4 Bestimmungen wurden am gleichen Tier ausgeführt)	48
16	Prozentualer Anstieg bzw. Abnahme des Katecholamin- und Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren nach LC 1-Applikation bezogen auf Leerwert (Ausgangswert)	49
	Statistische Ergebnisse	
17 - 20	Varianz-Analysen für hyaluronidasehemmende Aktivität	50-53
21	Varianz-Analyse (und Mittelwerte $\bar{x}$ und Varianz s^2) für l-Ascorbinsäure-Bestimmungen	54
22	Varianz-Analyse (und Mittelwerte $\bar{x}$ und Varianz s^2) für Katecholamin-Bestimmungen	54
23	Darstellung der Veränderungen der Mittelwerte gegenüber den Leerwerten zu den Versuchszeiten und zwischen den einzelnen Versuchszeiten	55

Extinktionswerte Probe II (Adrenalin)

	100 γ	75 γ	50 γ	25 γ	12,5 γ
1.	0,495		0,265	0,134	0,061
2.	0,455	0,343	0,241	0,111	0,055
3.	0,408	0,330	0,232	0,108	0,055
4.	0,445	0,318	0,221	0,108	0,058
5.	0,495		0,261	0,126	0,064
6.	0,420	0,325	0,229	0,110	0,060
7.	0,453		0,233	0,118	0,064
8.	0,550		0,242		
	0,465	0,329	0,240	0,116	0,060

TABELLE 1

Extinktionswerte Probe I - Probe II Ascorbinsäure

	100 γ	75 γ	50 γ	25 γ	12,5 γ
1.	0,280		0,139	0,070	0,030
2.	0,485	0,247	0,143	0,066	0,014
3.	0,395	0,283	0,193	0,120	0,053
4.	0,360	0,292	0,199	0,100	0,051
5.	0,337		0,173	0,096	0,035
6.	0,350	0,282	0,186	0,094	0,037
7.	0,362		0,185	0,103	0,045
8.	0,270		0,193		
	0,367	0,276	0,174	0,093	0,038

TABELLE 2

Extinktionswerte Probe I Adrenalin + Ascorbinsäure

	100 γ	75 γ	50 γ	25 γ	12,5 γ
1.	0,775		0,404	0,204	0,091
2.	0,940	0,590	0,384	0,177	0,069
3.	0,803	0,613	0,425	0,228	0,108
4.	0,805	0,610	0,420	0,208	0,109
5.	0,832		0,434	0,212	0,099
6.	0,770	0,607	0,415	0,204	0,097
7.	0,815		0,418	0,221	0,109
8.	0,820		0,435		
	0,820	0,605	0,414	0,208	0,097

TABELLE 3

20 min nach subkutan Injektion von 0,01 ccm Aqua dest.

Nr.	Gewicht Ratte g	Gewicht NN mg	Extinktion von Adrenalin	Adrenalingehalt der NN in γ	Adrenalingehalt in γ pro 100 g Ratte
1	195	15,2	0,180	39,5	20,3
2	148	14,1	0,135	29,5	20,0
3	125	10,2	0,146	32,0	25,6
4	113	10,4	0,135	29,5	26,5
5	125	15,1	0,156	34,0	27,2
6	110	11,0	0,074	16,5	15,0
7	105	9,3	0,078	17,0	16,2

Nr.	Gesamt- Extinktion	Extinktion l-Ascorbinsäure	l-Ascorbinsäuregehalt der NN in γ	l-Ascorbinsäuregehalt in γ pro mg NN
1	0,360	0,180	49,0	3,22
2	0,290	0,155	42,5	3,02
3	0,250	0,104	28,5	2,79
4	0,308	0,173	47,5	4,56
5	0,285	0,129	35,0	2,33
6	0,245	0,171	47,0	4,27
7	0,170	0,092	25,5	2,64

TABELLE 4
(Versuchsreihe 1)

20 min nach subkutan Injektion von 0,01 ccm LC 1

Nr.	Gewicht Ratte g	Gewicht NN mg	Extinktion von Adrenalin	Adrenalingehalt der NN in γ	Adrenalingehalt in γ pro 100 g Ratte
1	118	19,2	0,075	16,5	14,0
2	126	13,8	0,083	18,5	15,4
3	112	12,9	0,097	21,0	18,75
4	95	14,6	0,083	18,5	19,5
5	110	10,8	0,108	23,5	21,4
6	113	16,0	0,150	32,5	28,8
7	116	12,0	0,175	38,5	33,2

Nr.	Gesamt- Extinktion	Extinktion l-Ascorbinsäure	l-Ascorbinsäuregehalt der NN in γ	l-Ascorbinsäuregehalt in γ pro mg NN
1	0,384	0,309	84,5	4,40
2	0,348	0,265	72,5	5,25
3	0,240	0,143	39,5	3,95
4	0,305	0,222	61,0	4,108
5	0,257	0,149	40,05	3,72
6	0,417	0,267	73,0	4,51
7	0,292	0,117	31,5	2,58

TABELLE 5
(Versuchsreihe 1)

40 min nach subkutan Injektion von 0,01 ccm LC 1

Nr.	Gewicht Ratte g	Gewicht NN mg	Extinktion von Adrenalin	Adrenalingehalt des NN in γ	Adrenalingehalt in γ pro 100 g Ratte
1	104	17,4	0,070	15,5	14,9
2	115	12,0	0,102	22,5	19,2
3	83	11,4	0,076	16,5	19,9
4	108	16,4	0,202	44,5	20,4
5	111	16,0			
6	118	15,4	0,115	25,0	21,2
7	120	14,2	0,120	26,2	21,8
8	115	14,2	0,080	17,5	15,25

Nr.	Gesamt- Extinktion	Extinktion l-Ascorbinsäure	l-Ascorbinsäuregehalt der NN in γ	l-Ascorbinsäuregehalt in γ pro mg NN
1	0,280	0,210	57,5	3,31
2	0,262	0,160	44,0	3,68
3	0,235	0,159	43,5	3,82
4	0,790	0,588	158,0	4,88
5				
6	0,277	0,162	44,5	2,85
7	0,268	0,148	40,5	2,88
8	0,285	0,205	56,0	3,94

TABELLE 6
(Versuchsreihe 1)

60 min nach subkutan Injektion von 0,01 ccm LC 1

Nr.	Gewicht Ratte g	Gewicht NN mg	Extinktion von Adrenalin	Adrenalingehalt der NN in γ	Adrenalingehalt in γ pro 100 g Ratte
1	102	10,0	0,054	12,0	11,8
2	110	15,1	0,060	13,5	12,3
3	100	14,7	0,063	14,0	14,0
4	125	16,0	0,083	18,0	14,4
5	98	13,0	0,077	16,5	16,8
6	125	20,6	0,104	23,0	18,4
7	110	13,8	0,075	16,4	14,9

Nr.	Gesamt- Extinktion	Extinktion l-Ascorbinsäure	l-Ascorbinsäuregehalt der NN in γ	l-Ascorbinsäuregehalt in γ pro mg NN
1	0,283	0,229	63,0	6,30
2	0,250	0,190	52,0	4,73
3	0,230	0,167	45,0	4,50
4	0,173	0,090	24,5	1,53
5	0,342	0,265	72,5	5,56
6	0,500	0,396	107,0	5,30
7	0,300	0,225	61,5	4,45

TABELLE 7
(Versuchsreihe 1)

80 min nach subkutan Injektion von 0,01 ccm LC 1

Nr.	Gewicht Ratte g	Gewicht NNmg	Extinktion von Adrenalin	Adrenalingehalt der NN in γ	Adrenalingehalt in γ pro 100 g Ratte
1	120	13,6	0,107	23,5	19,6
2	112	16,0	0,105	23,0	22,8
3	106	12,8	0,114	25,0	23,6
4	87	12,4	0,093	20,5	23,6
5	84	17,6	0,096	21,0	25,0
6	105	15,8	0,125	27,5	26,4
7	100	16,0	0,135	29,5	29,5

Nr.	Gesamt- Extinktion	Extinktion l-Ascorbinsäure	l-Ascorbinsäuregehalt der NN in γ	l-Ascorbinsäuregehalt in γ pro mg NN
1	0,302	0,195	53,5	3,94
2	0,435	0,330	90,0	5,63
3	0,308	0,194	53,0	4,14
4	0,275	0,182	50,0	4,04
5	0,500	0,404	109,5	6,18
6	0,390	0,265	72,5	4,60
7	0,450	0,315	86,0	5,38

TABELLE 8
(Versuchsreihe 1)

100 min nach subkutan Injektion von 0,01 ccm LC 1

Nr.	Gewicht Ratte g	Gewicht NN mg	Extinktion von Adrenalin	Adrenalingehalt des NN in γ	Adrenalingehalt in γ pro 100 g Ratte
1	155	21,0	0,083	18,0	11,6
2	100	14,8	0,064	16,5	16,5
3	117	12,8	0,102	22,4	19,3
4	95	13,0	0,115	25,0	26,3
5	90	19,4	0,110	24,0	26,6
6	112	16,5	0,100	21,6	18,0
7	100	15,0	0,110	24,0	24,0

Nr.	Gesamt- Extinktion	Extinktion l-Ascorbinsäure	l-Ascorbinsäuregehalt der NN in γ	l-Ascorbinsäuregehalt in γ pro mg NN
1	0,342	0,259	71,5	3,30
2	0,245	0,181	50,0	3,36
3	0,273	0,171	47,0	3,68
4	0,317	0,202	55,5	4,26
5	0,400	0,290	79,4	4,10
6	0,310	0,210	57,8	3,52
7	0,330	0,220	60,0	4,00

TABELLE 9
(Versuchsreihe 1)

120 min nach subkutan Injektion von 0,01 ccm LC 1

Nr.	Gewicht Ratte g	Gewicht NNmg	Extinktion von Adrenalin	Adrenalingehalt der NN in γ	Adrenalingehalt in γ pro 100 g Ratte
1	123	13,0	0,065	14,5	11,8
2	130	12,4	0,080	17,5	13,48
3	100	20,8	0,080	17,5	17,5
4	110	17,4	0,100	22,5	20,4
5	90	17,4	0,095	20,5	22,8
6	100	17,6	0,125	27,5	27,5
7	138	14,4	0,060	13,0	9,4

Nr.	Gesamt- Extinktion	Extinktion l-Ascorbinsäure	l-Ascorbinsäuregehalt der NN in γ	l-Ascorbinsäuregehalt in γ pro mg NN
1	0,258	0,193	53,0	4,08
2	0,316	0,236	64,5	4,96
3	0,290	0,210	57,5	2,77
4	0,350	0,250	68,5	3,94
5	0,315	0,220	60,0	3,42
6	0,400	0,275	75,0	4,26
7	0,285	0,225	61,5	4,27

TABELLE 10
(Versuchsreihe 1)

4 1/2 Stunden nach subkutan Injektion von 0,01 ccm LC 1

Nr.	Gewicht Ratte g	Gewicht NNmg	Extinktion von Adrenalin	Adrenalingehalt der NN in γ	Adrenalingehalt in γ pro 100 g Ratte
1	80	18,0	0,134	29,5	36,8
2	100	25,0	0,117	25,5	25,5
3	72	14,0	0,082	18,0	25,0
4	98	14,2	0,098	21,0	21,4

Nr.	Gesamt- Extinktion	Extinktion l-Ascorbinsäure	l-Ascorbinsäuregehalt der NN in γ	l-Ascorbinsäuregehalt in γ pro mg NN
1	0,390	0,256	70,0	3,90
2	0,388	0,271	74,5	2,98
3	0,345	0,263	72,0	5,15
4	0,288	0,190	52,0	3,66

TABELLE 11
(Versuchsreihe 1)

Nr.	Gewicht in g	$F_v \text{ mm}^2$	$F_{40} \text{ mm}^2$	$F_{60} \text{ mm}^2$	$FH_v \text{ mm}^2$	$FH_{40} \text{ mm}^2$	$FH_{60} \text{ mm}^2$
1	150	120	125	80	232	164	161
2	170	113	126	118	263	185	149
3	190	122	120	120	340	282	235
4	160	110	100	110	288	222	220
5	200	150	133	127	282	224	186
6	200	125	116	114	224	192	188
7	190	124	128	120	256	216	208
8	190	132	110	104	234	204	200
9	200	108	108	108	280	184	180
10	200	116	112	132	248	200	160
11	180	136	128	120	268	184	184
12	120	124	124	124	232	196	180
13	150	128	136	120	240	192	188
14	170	124	112	108	264	188	180
15	170	116	132	120	232	200	152

TABELLE 12
(Versuchsreihe 2)

Nr.	Gewicht in g	$F_v \text{ mm}^2$	$F_{20} \text{ mm}^2$	$F_{80} \text{ mm}^2$	$FH_v \text{ mm}^2$	$FH_{20} \text{ mm}^2$	$FH_{80} \text{ mm}^2$
1	150	120	116	120	196	168	152
2	180	96	120	100	236	192	152
3	170	120	112	108	208	180	156
4	190	104	112	92	200	176	148
5	190	116	160	116	196	172	148
6	200	120	128	104	212	192	128
7	180	104	96	120	208	144	160
8	180	96	116	108	200	184	136
9	200	120	120	116	200	160	140
10	190	120	120	116	184	136	140

TABELLE 13
(Versuchsreihe 2)

Nr.	Gewicht in g	$F_v \text{ mm}^2$	$F_{120} \text{ mm}^2$	$F_{140} \text{ mm}^2$	$FH_v \text{ mm}^2$	$FH_{120} \text{ mm}^2$	$FH_{140} \text{ mm}^2$
1	250	160	160	144	340	260	244
2	230	166	148	124	286	256	222
3	220	124	144	134	312	238	192
4	250	162	159	150	340	256	220
5	230	180	130	180	336	264	190
6	240	116	120	120	340	260	210
7	270	156	148	150	354	298	258
8	200	160	156	160	300	250	230
9	200	160	150	156	294	240	230

TABELLE 14
(Versuchsreihe 2)

Nr.	Gewicht in g	F_v mm^2	F_{20} mm^2	F_{40} mm^2	F_{60} mm^2	F_{80} mm^2	FH_v mm^2	FH_{20} mm^2	FH_{40} mm^2	FH_{60} mm^2	FH_{80} mm^2
1	290	120	116	112	100	108	212	188	140	100	120
2	240	124	120	128	116	120	228	164	152	136	140
3	290	116	124	120	120	100	240	172	160	112	126

TABELLE 15
(Versuchsreihe 2)

Zeit in min	Adrenalin/100 g Ratte in der NN in γ	Differenz gegenüber dem Leerwert in γ	Prozentualer Wert der Differenz bezogen auf Leerwert	Prozentualer Adrenalin-Gehalt in γ /100 g Ratte bezogen auf Leerwert
Leerwert:	21,54			100,00%
20	21,58	+ 0,04	+ 0,18%	100,18%
40	18,95	- 2,59	- 8,3 %	91,70%
60	14,66	- 6,88	- 31,94%	68,06%
80	24,36	+ 2,82	+ 13,09%	113,09%
100	20,33	- 1,21	- 5,62%	94,38%
120	17,55	- 3,99	- 18,52%	81,48%
4 1/2 Std.	27,17	+ 5,63	+ 26,14%	73,86%

Zeit in min	Ascorbinsäure- gehalt pro mg NN in γ	Differenz gegenüber dem Leerwert in γ	Prozentualer Wert der Differenz bezogen auf Leerwert	Prozentualer Ascorbinsäuregehalt der NN bezogen auf Leerwert
0	3,26			100,0%
20	4,07	0,81	+ 24,8%	124,8%
40	3,62	0,36	+ 9,06%	109,1%
60	4,62	1,36	+ 23,9%	123,9%
80	4,84	1,58	+ 48,5%	148,5%
100	3,74	0,48	+ 14,7%	114,7%
120	3,96	0,70	+ 21,4%	121,4%
4 1/2 Std.	3,92	0,66	+ 20,2%	120,2%

TABELLE 16

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	9	1.081	120	-	
Zwischen Verfahren	5	73.010	14.602	92,41	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	55.876	55.876	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V. -Zeiten (Farbst)	1	10	10	-	
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	162	162	1,02	-
Zw. Kontr. u. Vers. Zeit. (Hyase)	1	13.984	13.984	88,51	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	2.977	2.977	18,84	0,1%
Rest-Varianz	45	7.100	158		
Gesamt-Varianz	59	81.191	1.376		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _v	112	108			
FH _v	204	188			
F _{20'}	116	69	+ 4		-
FH _{20'}	170	360	- 34	36,7%	0,1%
F _{80'}	110	86	- 2		-
FH _{80'}	146	97	- 58	63,3%	0,1%

TABELLE 17
(LC 1, 20' und 80')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	14	14.526	1.038	3,26	0,1%
Zwischen Verfahren	5	251.698	50.320	100,00	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	205.923	205.923	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V. -Zeiten (Farbst)	1	288	288	-	
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	241	241	-	
Zw. Kontr. u. V. -Zeiten (Hyase)	1	42.859	42.859	100,00	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	2.288	2.288	7,19	1%
Rest-Varianz	70	22.292	318		
Gesamt-Varianz	89	288.416	3.241		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _v	123	115			
FH _v	259	933			
F _{40'}	121	111	- 2		-
FH _{40'}	202	736	- 57	40,7%	0,1%
F _{60'}	115	151	- 8		-
FH _{60'}	185	583	- 74	53,3%	0,1%

TABELLE 18
(LC 1, 40' und 60')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	8	6.607	826	2,95	5%
Zwischen Verfahren	5	237.120	47.424	100,00	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	189.985	189.985	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V. -Zeiten (Farbst)	1	337	337	-	
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	0	0		
Zw. Kontr. u. V. -Zeiten (Hyase)	1	40.893	40.893	100,00	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	5.904	5.904	21,08	0,1%
Rest-Varianz	40	11.221	280		
Gesamt-Varianz	53	255.948	4.829		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _v	154	417			
FH _v	322	607			
F _{120'}	146	178	- 8		-
FH _{120'}	258	305	- 64	37,1%	0,1%
F _{140'}	146	349	- 8		-
FH _{140'}	222	497	- 100	57,9%	0,1%

TABELLE 19
(LC 1, 120' und 140')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	2	649	325	3,35	-
Zwischen Verfahren	9	37.221	4.136	42,64	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	13.910	13.910	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V. -Zeiten (Farbst)	1	52	52	-	
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	3	272	91	-	
Zw. Kontr. u. V. -Zeiten (Hyase)	1	17.002	17.002	100,00	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	3	5.985	1.995	20,57	0,1%
Rest-Varianz	18	1.749	97		
Gesamt-Varianz	29	39.619	1.366		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _v	120	16			
FH _v	227	198			
F _{20'}	120	16	0		-
FH _{20'}	175	150	- 52	47,1%	0,1%
F _{40'}	120	64	0		-
FH _{40'}	151	101	- 76	68,9%	0,1%
F _{60'}	112	112	- 8		-
FH _{60'}	116	336	- 111	100,0%	0,1%
F _{80'}	110	101	- 10		-
FH _{80'}	129	105	- 98	88,8%	0,1%

TABELLE 20
(LC 1, 20', 40', 60' und 80')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Stufen	7	13,0532	1,8647	2,33	5%
Zw. Kontr. u. -Vers. -Gruppen	1	4,5354	4,5354	4,81	5%
Zw. Versuchs-Gruppen	6	8,5178	1,4196	1,51	-
Innerhalb Gruppen	45	35,9740	0,7994		
Gesamt-Varianz	52	49,0272	0,9428		

$$n = 7; \chi^2_{\text{emp.}} = 11,635; 10\% \leq p.$$

	N	$\bar{x}$	s^2
L	7	3,26	0,7066
20'	7	4,07	0,6756
40'	7	3,62	0,4950
60'	7	4,62	2,2953
80'	7	4,84	0,7848
100'	7	3,74	0,1429
120'	7	3,96	0,4847
4 1/2	4	3,92	0,8215

TABELLE 21
(Ascorbinsäure)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Stufen	7	655,1740	93,5963	3,66	1%
Zw. Kontr. u. -Vers. -Gruppen	1	10,7860	10,7860	-	
Zw. Versuchs-Gruppen	6	644,3880	107,3980	4,20	1%
Innerhalb Gruppen	45	1150,0072	25,5557		
Gesamt-Varianz	52	1805,1812	34,7150		

$$n = 7; \chi^2_{\text{emp.}} = 12,768; 5\% \leq p.$$

	N	$\bar{x}$	s^2
L	7	21,54	24,7195
20'	7	21,58	49,1949
40'	7	18,95	7,7241
60'	7	14,66	5,4795
80'	7	24,36	9,5395
100'	7	20,33	30,9657
120'	7	17,55	41,7900
4 1/2	4	27,17	44,5091

TABELLE 22
(Adrenalin)

Adrenalin

	L	20'	40'	60'	80'	100'	120'	4 1/2
L		0,04	-2,59	-6,88	2,82	-1,21	-3,99	5,63
20'	-		-2,63	-6,92	2,78	-1,25	-4,03	5,59
40'	-	-		-4,29	5,41	1,38	-1,40	8,22
60'	5,0%	5,0%	-		9,70	5,67	2,89	12,51
80'	-	-	-	0,1%		-4,03	-6,81	2,81
100'	-	-	-	5,0%	-		-2,78	6,84
120'	-	-	-	-	5,0%	-		9,62
4 1/2	-	-	5,0%	0,1%	-	5,0%	1,0%	

Ascorbinsäure

	L	20'	40'	60'	80'	100'	120'	4 1/2
L		0,81	0,36	1,36	1,58	0,48	0,70	0,66
20'	-		-0,45	0,55	0,77	-0,33	-0,11	-0,15
40'	-	-		1,00	1,22	0,12	0,34	0,30
60'	1,0%	-	5,0%		0,22	-0,88	-0,66	-0,70
80'	1,0%	-	5,0%	-		-1,10	-0,88	-0,92
100'	-	-	-	-	5,0%		0,22	0,18
120'	-	-	-	-	-	-		-0,04
4 1/2	-	-	-	-	-	-	-	

TABELLE 23

DISKUSSION

Die Untersuchungen haben ergeben, dass der Katecholamingehalt der Nebennieren nach Gabe von LC 1 deutlich unter den Normalgehalt absinkt und zwar mit einem Minimalwert bei 60 min nach Applikation. Selbst wenn man bedenkt, dass die Abnahme des Katecholamingehaltes aus Ausschüttung und etwaiger gleichzeitiger Neubildung resultiert, werden im beobachteten Zeitraum mindestens 6,9 μ g Adrenalin pro 100 g Ratte freigesetzt. Nach Untersuchungen von MATHIES (30) dürfte diese Menge genügen, um eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität sichtbar zu machen. Bei 80 min nach Injektion von LC 1 steigt der Katecholamingehalt (13%) über den Normalwert und 45% über den Minimalwert an (Abb. 4). Dieser Anstieg ist vermutlich als Regulationsverhalten anzusehen. Der weitere Verlauf wurde nicht beobachtet, zumal erfahrungsgemäss zu späteren Zeitpunkten die Werte der einzelnen Versuchstiere grössere Streuungen aufweisen.

Das Verhalten des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren zeigte keine wesentliche Abnahme der Werte und damit keine deutliche Stimulierung der Nebennierenrinde durch die Prüfsubstanz.

Das Verhalten des Katecholamin- und Ascorbinsäuregehaltes nach LC 1-Applikation ähnelt damit dem des Typ II der Stressreaktion von SAYERS (40, 58) (Abb. 5), wenn man die Prüfsubstanz als FMS diskutieren will (sich langsam entwickelnder und lang anhaltender Stress wie Schwangerschaft, wobei SAYERS einen signifikanten Abfall des Katecholamingehaltes der Nebennieren, aber keinen Abfall des Ascorbinsäuregehaltes feststellte), weil Neubildung und Ausschüttung sich angleichen.

Wenn, wie einleitend dargelegt, im LC 1 eine im Stressablauf wirksame Substanz vermutet wird, so greift diese zumindest nicht sicher an der Nebennierenrinde an. Der Gehalt der Nebennieren an Ascorbinsäure zeigte zu Beginn einen Anstieg von 24% (20 min nach Applikation von LC 1) und später fast 50% (80 min nach LC 1-Applikation) über den Ausgangswert. Der Abnahme von 34% des Ausgangswertes (100 min nach LC 1-Applikation) entspricht aber der gleichen Ordnung wie bei den Katecholaminen (32%) (60 bzw. 120 min nach LC 1-Applikation) (Abb. 4).

Bei anderen von DOMENJOZ (5) und MATHIES (31) untersuchten hyaluronidasehemmenden Stoffen war stets ein signifikanter Abfall des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren im Zeitraum von 80 min nach Applikation festzustellen. Allerdings hat MATHIES (29) zeigen können, dass eine Aktivierung der Nebennierenrinde für das Zustandekommen eines hyaluronidasehemmenden Effektes nicht massgebend ist.

Da die Hyaluronidasehemmung vermutlich eine Nebennierenmarkfunktion darstellt, konnte die Abnahme des Katecholamingehaltes der Nebennieren in der vorgelegten Arbeit ebenfalls nachgewiesen werden.

Das Maximum der Hyaluronidasehemmung im Spreading-Test liegt bei 60 min und 80 min nach Applikation von LC 1. Diese Zeitverhältnisse entsprechen den Werten der stärksten Katecholamin-Abnahme in der Nebenniere (siehe Abb. 3 und 4)

insofern, als nach MATHIES (30) die Hyaluronidasehemmung erst 15 bis 45 min nach der Katecholamin-Freisetzung aufzutreten scheint. Es kommt also in den hier gefundenen Verhältnissen ebenfalls die Tatsache zum Ausdruck, dass es sich bei der Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings nicht um eine primäre Katecholaminwirkung handelt, sondern dass die Hemmung immer erst dann auftritt, wenn der Katecholamin-Blutspiegel nach vorherigem Ansteigen wieder auf niedrigere Werte absinkt.

Es ist aber interessant zu beobachten, dass das Maximum der Hyaluronidasehemmung (100%) bei den grossen Ratten (Versuche an selben Tieren) mit der maximalen Ausschüttung der Katecholamine zeitlich zusammenfallen und zwar 60 min nach Applikation von LC 1 (Abb. 4).

Schliesslich haben die Tierversuche ergeben, dass die Prüfsubstanz in den therapeutisch angewandten Mengen und Konzentrationen absolut untoxisch ist, da von Ratten die fünffache beim Menschen angewandte Dosis vertragen wurde.

ZUSAMMENFASSUNG

Der von MACH aus tierischen Frischgeweben (die einer gesteuerten Proteolyse in Gegenwart eines insbesondere im Bindegewebe vorkommenden Katalysators bei 37°C unterworfen wurden), isolierte Wirkstoff (LC 1) wurde in seiner Wirkung auf den Katecholamin- und Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren und auf das Hyaluronidase-Spreading geprüft.

Zur Bestimmung des Katecholamin- und Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren wurde die Methode von BRÜGGEMANN, KARG und KÄPPELER angewandt. Für den Spreading-Test wurde der Einfluss auf die Ausbreitung einer intrakutan gesetzten Quaddel von Evans-Blau+Hyaluronidase-Lösung im Vergleich zu einer reinen Farbstofflösung bestimmt. Die Tiere wurden jeweils mit 0,1 ccm LC 1 subkutan belastet.

Die Prüfsubstanz übte eine statistisch hochgesicherte Hemmung auf das Hyaluronidase-Spreading (mit Maximum um 80 min nach Applikation von LC 1), jedoch keine Hemmung auf die reine Evans-Blau-Quaddel aus.

Es wurde gefunden, dass die Prüfsubstanz LC 1 auf den Katecholamingehalt der Nebenniere absinkend wirkt (mit Minimum um 60 min nach Injektion von LC 1); dagegen war ein erhöhter Gehalt von Ascorbinsäure zu verzeichnen.

Die Prüfsubstanz wirkt daher eher auf das Nebennierenmark. Es wurde auch gefunden, dass die Prüfsubstanz in höheren Dosen nicht toxisch wirkt.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) A Symposium on stress: British Med. J. of Clinical Pract. 13, 5 (1959)
- 2) Breckenridge, I. M., Walton, E. W. u. Walker, W. F. : British Med. J. 1394 (1959) u. 1362
- 3) Brüggemann, J., Karg, H. u. Käppeler, O. : Vitamine u. Hormone 7, 200 (1956)
- 4) Curling, T. B. : Med. Chir. Trans. 1842, 25, 260
- 5) Domenjoz, R. : Arch. exp. Path. Pharmacol. 255, 14 (1955)
- 6) Eichholtz, F. : Lehrbuch der Pharmakologie, Springer Berlin/Göttingen, Heidelberg, 1957, S.80
- 7) Elmadjian, F. : Pharm. Rev. II, 409, 1959
- 8) Filatov, V. P. : Tissue Therapie, Moscow 1955
- 9) Gebhardt, H. : Grundriss der Pharmakologie Toxikologie, Verlag Rudolph Müller und Steinicke, München 1959, S.141-143 u. 242-247
- 10) Hass, H. : Arzneimittelforsch. 9 567 (1959)
- 11) Hauschild, F. : Pharmakologie u. Grundlage der Toxikologie, Thieme-Verlag Leipzig 1956
- 12) Hökfelt, B. : Acta Physiol. Scand. 25 (1951), Suppl. 92
- 13) Hunter, J. D., Bayliss, R. J. S. u. Steinbeck, W. : Lancet 6870, 884 (1955)
- 14) Jacobson, T. u. Hartling, H. : Acta endocrinol. 15, 265 (1954)
- 15) Joél, C. A. u. Sulman, F. G. : Einführung in die allgemeine Endokrinologie (zitiert 35)
- 16) Kark, R. M. u. Muehrcke, R. C. : Lancet 1, 1189 (1952)
- 17) Larbhardt, A. : Klinik der inneren Sekretion, Springer-Verlag, Berlin/Göttingen/Heidelberg, 1957, S.287, 300-302
- 18) Long, C. N. H. : Ann. Rev. J. Physiol. 18, 409 (1956)
- 19) Mach, H. Ch. : Vgl. Zschr. 41 : 1932 (1959)-Mutke
- 20) Mach, H. Ch. : Med. Welt 430 (1960)
- 21) Mach, W. J. : Med. Monatsspiegel 8, 11 (1959)
- 22) Mach, W. J. : "Adaptations-aktive Gewebshormone ihre Biogenese, Chemie und therapeutische Bedeutung" im Manuskript
- 23) Mach, W. J. : Kolloid-Ztsch. 1, 147 (1956)
- 24) Mach, W. J. : Arch. Pharma. 61, 5 289
- 25) Mach, W. J. : Elektromed. 1, 7 (1957)
- 26) Mach, W. J. : Neues über adaptions-aktive Gewebshormone, im Manuskript
- 27) Mach, W. J. u. Mach, Ch. : Ärztl. Forsch. 13, II/101 (1959)
- 28) Mach, W. J. u. Mach, Ch. : Kolloid-Ztsch. 163 (1959)
- 29) Mathies, H. : Arch. exp. Path. Pharmacol. 240, 31 (1960)
- 30) Mathies, H. : Pharmazie 14, 429 (1959)
- 31) Mathies, H. : Ztschr. Rheumaforsch. 18, 308 (1959)
- 32) Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J. u. Schmidt, S. : Med. Exp. 1, 64 (1959)

- 33) Mathies, H., Östreich, G. u. Schwalbach, K. : (im Druck)
- 34) Mathies, H. u. Vogel, M. : Ztsch. ges. exp. Med. 133, 32 (1960)
- 35) Meng, H. : Psyche u. Hormone, Verlag Hans Huber Bern und Stuttgart 1960, S.125-136 u. S.355-413
- 36) Okinaka u. Mitarb. : zit. Hartling, H. u. Björkesten, G. : Acta endocrin. 22, 166 (1956)
- 37) Pincus, G. : Rec. Progr. Horm. Res. 4 (1949)
- 38) Pschyrembel, W. : Klinisches Wörterbuch, Walter de Gruyter u. Co., Berlin 1958, S. 589-590
- 39) Roche, M., Thom, G. W., Hills, A. G. : New Engl. J. Med. 242, 307 (1950)
- 40) Sayers, G. u. Sayers, M. : Rec. Progr. Horm. Res. 1948, 2, 81
- 41) Sayers, G. u. Sayers, M. : Ann. N.Y. Acad. Scie. 50, 522 (1949)
- 42) Sayers: Physiol. Rev. 1950, 30, 241
- 43) Selye, H. : Der derzeitige Stand der Stressforschung zit. (35), S.125-136
- 44) Selye, H. : Einführung in die Lehre vom Adaptations-Syndrom, Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1953
- 45) Selye, H. : Wien. med. Wschr. 109, 397 (1959)
- 46) Selye, H. : Stress beherrscht unser Leben, Econ-Verlag, Düsseldorf 1957
- 47) Selye, H. : Acta. Inc. Med. Publ., Montreal, Canada (1950)
- 48) Selye, H. : J. Clin. Endocrinol. 6 117/118 (1946)
- 49) Selye, H. : Canadian M. A. J. 50, 426 (1944)
- 50) Selye, H. u. Collip, J. B. : Endocrinology 20, 667 (1936)
- 51) Selye, H., Horava, A. u. Heuser, G. : Act. Inc. Med. Publ., Montreal, Canada, 1-5 (1951-55/56)
- 52) Stewart, M. J. : Brit. Med. J. 1923, 2, 955
- 53) Sulman, F. G. : Einfluss der Hormone auf Persönlichkeit und Verhalten, (zitiert 35, S.355-413)
- 54) Thorn, G. W. : Amer. J. Med. 14, 139 (1953)
- 55) Weidmann, H. u. Möller, E. : Arch. exp. Path. Pharmakol. 220, 465 (1953)
- 56) Weiss, G. : Dissertation München 1960
- 57) Wilhelmi, G. : zit. Domenjoz, R. : (5)
- 58) Wright, S. : Applied Physiology S. 946-950, Geoffrey Cumberlege (Oxford University Press) London, N. Y., Toronto (1952)
- 59) v. Euler, U. S. : zit. Malorny, G. : Dtsch. med. Journ. 4, 29 (1953)

Ich danke Herrn Professor Dr. W. SEITZ für die Überlassung des Themas; ebenso danke ich Herrn Dr. H. MATHIES für die Anregungen und Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit. Herrn Dipl. -Math. K. LIEBRICH danke ich für die Durchführung der statistischen Berechnungen. Herrn Dr. W.J. MACH danke ich für die Überlassung der von ihm dargestellten Prüfsubstanz.

LEBENS LAUF

Am 21. Juli 1932 wurde ich Ohene-Asa Akuffo als erstes Kind des Schulrektors Kwaku Akyeampong und Akua Afihemaa (Nichte des Königs Akuffo von Akuapem) in Akropong, Akuapem (Ghana), geboren.

Dort besuchte ich die Presbyterian Junior- und Senior-School von 1937 bis 1942 bzw. 1943 bis 1946. Durch ein Stipendium der Cadbury Agricultural Fond konnte ich weiter an dem Achimota College (1947-1950) das Abitur (Cambridge School Certificate der Universität Cambridge) absolvieren. Mit Staats-Stipendium studierte ich weiter Naturwissenschaften (Physik, Chemie, Zoologie und Botanik) an der Achimota Higher School und machte das Vordiplom (Cambridge Higher School Certificate) der Universität Cambridge 1952 mit Erfolg. 1952 errang ich den Landesrekord im Stabhochsprung für Ghana und West-Afrika.

1953 war ich Mathematik-Lehrer an der Oberschule St. Augustine's College, Cape Coast, Ghana.

Vom Oktober 1953 bis Oktober 1954 setzte ich mein Studium der Naturwissenschaften (Chemie, Zoologie und Botanik) an der Universität Ghana fort. Dort erhielt ich ein Stipendium der Ghana Cocoa Marketing Board für ein Medizin-Studium in Deutschland.

Nach einem erfolgreichen deutschen Sprachkursus in Stuttgart studierte ich zunächst an der Universität Tübingen SS 1955, wo ich das Physikum mit Erfolg im Juli 1957 ablegte. Mein klinisches Studium habe ich an der Universität München fortgesetzt, WS 1957 - SS 1961. Am 9. Juni 1961 vollendete ich die ärztliche Prüfung. Seitdem war ich als Medizinalassistent an der Chirurgischen Klinik und der I. Frauenklinik an der Universität München tätig.

